

THESIS

MUNICH

1967

AUS DEM GERICHTSMEDIZINISCHEN INSTITUT
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

(Direktor: Prof. Dr. Laves)

Probleme der Prüfung der serologischen Verträglichkeit vor Bluttransfusionen

(Erfahrungen aus dem Bürgerspital Basel)

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
verfaßt und einer hohen medizinischen Fakultät
der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt von

HEINZ HERMANN

aus Vilsbiburg

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF. 94304

München 1967

Probleme der Prüfung der serologischen Verträglichkeit vor Bluttransfusionen.
(Erfahrungen aus dem Bürgerspital Basel)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
in der Medizin
verfasst und einer
hohen medizinischen Fakultät
der Bayerischen Ludwig-Maximilians-Universität
zu München
vorgelegt von
Heinz Hermann
aus
Vilsbiburg

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.H.Jungwirth

Mitberichterstatter: Prof.Dr.W.Laves

Dekan: Prof.Dr.F.Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 17.10.1967

Probleme der Prüfung der serologischen Verträglich-
keit vor Bluttransfusionen. Erfahrungen aus dem Bür-
gerspital Basel.

A. Einleitung (Historischer Überblick zur Entwicklung
des Transfusionswesens)

B I. Wichtige Gesichtspunkte zur Blutübertragung von heute

a) Anstieg der Bluttransfusionen

1. infolge der Entdeckung der Blutgruppen
2. infolge des Auf- und Ausbaus eines Blutspendedienstes
3. demonstrativer Beitrag an Hand von Zahlenbeispielen
aus dem Bürgerspital Basel.

b) Das Transfusionsrisiko

1. statistische Untersuchungen der Transfusionsreaktionen
vor und nach Einführung der Verträglichkeitsprobe
im Bürgerspital Basel.
2. das Transfusionsrisiko im Vergleich mit dem Risiko
in der Penicillintherapie und Anaesthesie.

B II. Die Inkompatibilität

a) Begriffserläuterung

b) Ursachen der Inkompatibilität und klinisches Bild

c) Bestimmung der Erythrocytenüberlebenszeit im Kreis-
lauf des Empfängers

1. nach der Methode der differenzierenden Agglutination
2. mit Hilfe von radioaktiven Isotopen

d) prophylaktische Massnahmen zur Vermeidung einer Un-
verträglichkeit.

B III. Die Verträglichkeitsprobe

a) Definition

b) Methodik nach der im Bürgerspital Basel angewandten
Technik

c) Sinn und Zweck der Verträglichkeitsprobe nach Einteil-
lung in 3 Stufen

d) Begründung und Berechtigung der Kreuzprobe

e)prinzipielle Punkte zur Durchführung der Verträglichkeitsprobe hinsichtlich

1.Blutgruppen- und Rhesusbestimmung

2.Verwendung von Plasma und Blut der Gruppe 0 als Universalspender

3.Probe nach Oehlecker in Notfallsituationen

4.der Durchführung der Kreuzprobe schlechthin

B IV. Das Albumin in der Verträglichkeitsprobe

a)historischer Rückblick zum Albumintest

b)Einführung und Bedeutung des Albumins im Antiglobulintest

c)Wirkungsmechanismus des Albumins

1.Agglutination bei kompletten und inkompletten Antikörpern

2.physik.-chem. Gesichtspunkte zur Hämagglutination

aa)Bedeutung des Zeta-Potentials

bb)Wirkung der Dielektrizitätskonstanten

cc)Einfluss reduzierender Faktoren auf das Zeta-Potential

3.Wirkung des Albumins auf die Dielektrizitätskonstante und das Zeta-Potential

4.Rolle der Albuminkonzentration

B V. Experimentelle Arbeiten und Auswertung von Untersuchungen

a)über die Wirksamkeit von Konzentrationsunterschieden im Gebrauch von Rinder-Albumin im Albumintest

b)hinsichtlich des Einflusses des Albumins im Antiglobulintest

c)hinsichtlich der Modifikation des Albumintestes durch die Albuminersatzmethode

d)hinsichtlich eines zusätzlichen Enzymtestes mit Stellungnahme zu dessen ev. alleiniger Anwendung.

C. Zusammenfassung und Kommentar.

Probleme der Prüfung der serologischen Verträglich-
keit vor Bluttransfusionen.Erfahrungen aus dem Bür-
gerspital Basel.

Seit den Anfängen menschlicher Geschichte wird das Blut als ein wesentlicher Lebensfaktor betrachtet und mit vielen mysteriösen Vorstellungen verbunden.Man sah häufig in ihm den Träger geistiger und physischer Charakterzüge.Zur Zeit der griechischen und römischen Klassik erhofften z.B. Schwache Heilung durch Baden im Blut des Starken oder durch Trinken seines Blutes.Das Blut der in der Arena erschlagenen Bullen und Gladiatoren galt als Volksgetränk.

All diesen Berichten des Altertums und Mittelalters, angefangen bei den Metamorphosen Ovid's über Galen und Vesalius bis ins 17.Jahrhundert,haftete jedoch mehr Aberglaube und Magie als Medizin an.Erst die folgenden Zeitalter der Renaissance und Empire mit dem Drang zum Experiment schufen dann die Voraussetzung für eine Blutübertragung.So wurden nach der

Mitteilung über die Entdeckung des Blutkreislaufes im Jahre 1628 durch Harvey und der Einführung der intravenösen Injektion in die Medizin im Jahre 1638 zum ersten Male 1656 Infusionsversuche unternommen. Richard Lower of Cornwall gelang dann 1665 die erste erfolgreiche Transfusion bei Hunden. Ein Jahr später übertrug Jean Denis einem 15-jährigen Knaben Schafblut.

Allerdings brachte das Fehlen genauer Kenntnisse der eigentlichen Zusammenhänge sehr oft fatale Konsequenzen mit sich.

Der "Erfolg" und die Anzahl der von diesem Zeitpunkt bis 1874 am Menschen durchgeführten Transfusionen soll daher durch die folgende Übersicht anschaulich gemacht werden. 37

<u>Menschenblut</u>	347	<u>Tierblut</u>	129
Günstiger Ausgang	150	Günstiger Ausgang	42
Ungünstiger Ausgang	180	Vorübergehende	
Zweifelhafter "	12	Besserung u. zweifelhafter Erfolg	25
Erfolg nicht zu erwarten	3	Keine Besserung u.	
Tod durch Operation	2	Tod	62

Ein weiterer Schritt vorwärts zur Klärung dieser Zwischenfälle zeigte sich dann 1875. In diesem Jahre wies Landois nach, dass sich bei jeder heterologen Transfusion die Erythrocyten auflösten. Damit erkannte er die "Ursache der Transfusionsunfälle". 22

Wichtige Gesichtspunkte zur Blutübertragung heute.

Aber erst mit der Entdeckung der ABO-Blutgruppen durch Landsteiner ²⁶ im Jahre 1900 ist eine erfolgreiche Blutübertragung engstens mit der Bestimmung der Blutgruppenzugehörigkeit von Spender und Empfänger verbunden. Eine wesentliche Bereicherung der Kenntnisse hinsichtlich immer wieder auftretender Transfusionsreaktionen ausserhalb des ABO-Systems bedeutet dann im Jahre 1940 das Auffinden des Rhesusfaktors durch Landsteiner und Wiener ²⁹. Mit der rapiden Zunahme der Bluttransfusionen und infolge gesteigerter Nachforschungen nach dem zweiten Weltkrieg wurden diese Entdeckungen durch diejenigen verschiedener anderer Blutgruppeneigenschaften immer mehr vervollständigt. Der Bedeutung nach wurden dabei das Kell-, Lewis-, Kidd- und Diego-Blutgruppensystem durch ihre Beziehungen zum morbus haemolyticus neonatorum, das Lutheran- und Duffy-Blutgruppensystem hingegen infolge von Transfusionsreaktionen gefunden. Daneben vollzog sich jedoch noch eine andere bedeutende Entwicklung im Transfusionswesen. Im Jahre 1914 wurde das Natrium citricum als gerinnungshemmendes Mittel und zwei Jahre später durch Mc Lean das Heparin entdeckt. Dadurch wurde die Möglichkeit einer geeigneten Blutkonservierung erschlossen und ein wesentlicher Beitrag zum allmählichen Aufbau eines regelrechten Blutspendedienstes in die Wege geleitet.

Der weitere Ausbau desselben liess nämlich erst die Zahl der jährlich durchgeführten Bluttransfusionen von Jahr zu Jahr deutlich zunehmen und schuf die eigentliche Grundlage für den enormen Aufschwung in der therapeutischen Anwendung von Blut.

Als Demonstration dieses ständigen und steilen Anstiegs der Bluttransfusionen möge hierzu das in der Tabelle 1 zusammengetragene Zahlenmaterial aus der chirurgischen Universitätsklinik des Bürgerspitals Basel eine anschauliche Übersicht geben.

Tabelle 1

Anzahl der in der chir. Universitätsklinik Basel
jährlich durchgeführten Vollbluttransfusionen von
1918-1955 und von 1961-1964

1918	5	1929	91	1940	227	1951	3020
1919	11	1930	105	1941	295	1952	2962
1920	2	1931	102	1942	292	1953	3429
1921	10	1932	110	1943	282	1954	4218
1922	19	1933	110	1944	357	1955	4589
1923	15	1934	150	1945	452		
1924	14	1935	174	1946	487		
1925	38	1936	208	1947	492	1961	6866
1926	30	1937	207	1948	1500	1962	7597
1927	60	1938	280	1949	1900	1963	8233
1928	62	1939	282	1950	2626	1964	7647

Mit der Kenntnis der Blutgruppen, dem Wissen vom Auftreten der Iso- und Immunantikörper und durch die Einführung empfindlicher Methoden ihrer Be-

stimmung mittels der Verträglichkeitsprobe stellt eine Blutübertragung heutzutage im Klinikbetrieb kein aufsehenswürdiges Ereignis mehr dar. Auch konnte infolge dieses Fortschrittes der früher klein-chirurgische Eingriff einer Routinemassnahme weichen. Man muss aber trotz der gesammelten Erfahrungen bedenken, dass bei dem derzeitigen Ausmass der Bluttransfusionen mit jeder Übertragung immer noch ein stetiges Risiko verbunden ist. Aus diesem Grunde darf die Verantwortung bei diesem therapeutischen Vorgehen keineswegs als zu gering eingeschätzt werden. Dazu kommt noch, dass im Falle einer Bluttransfusion während einer chirurgischen Intervention die Verantwortung heute auch nicht mehr allein beim Operateur liegen kann. Sie hat sich vielmehr auf verschiedene Personen, wie den Anaesthesisten und die Operationsassistenten, mit entsprechender Kompetenz aufgeteilt.

Das Transfusionsrisiko steht jedoch in enger Beziehung zur Transfusionsreaktion. Dies lässt sich z.B. durch statistische Untersuchungen von Transfusionsakten aus dem Bürgerspital Basel deutlich vergegenwärtigen. Nimmt man nämlich die Zeitspanne von 1918-1955, während der im Bürgerspital Basel nicht vor jeder Bluttransfusion eine serologische Verträglichkeitsprobe durchgeführt wurde, so geht aus über 20 000 durchgesehenen Transfusionsberichten hervor, dass in 2,48% der Übertragungen Reaktionen auftraten. Die Zahl der haemolytischen Zwischenfälle betrug hierbei 16. Dies entspricht 0,08%. Davon erfolgten in zwei Fällen als unmittelbare Auswirkung ei-

ner derartigen haemolytischen Erscheinung der Tod des Empfängers.

Seit 1955 funktioniert jedoch ein Blutgruppenlaboratorium, das systematisch serologische Verträglichkeitsproben durchführt. Nach Tabelle 2 ergibt sich als Durchschnittszahl von 1961-1964 pro Jahr 21 800.

Tabelle 2

Darstellung der Zunahme der Blutübertragungen und Verträglichkeitsproben auf den chirurg. u. med. Abteilungen des Bürgerspitals Basel von 1961 bis 1964.

		<u>Anzahl der</u>			
		bezogenen Konserven	nicht bezoge- nen Konserven	bestellten Konserven	Kreuzpro- ben
1960	Med.	2360	741	3101	
1961	Chir.	6866	8585	15452	
	Med.	<u>2291</u>	<u>926</u>	<u>3217</u>	
		9157	9511	18669	20 869
1962	Chir.	7597	9688	17287	
	Med.	<u>2355</u>	<u>1060</u>	<u>3415</u>	
		9952	10748	20702	22 316
1963	Chir.	8233	9621	17854	
	Med.	<u>2244</u>	<u>1183</u>	<u>3427</u>	
		10477	10804	21281	22 729

1964	Chir.	7647	9221	16868	
	Med.	<u>2206</u>	<u>1179</u>	<u>3385</u>	
		9853	10400	20253	21 729

In derselben Zeitspanne von 1961-1964 wurden dabei in 57 Empfängerseren Antikörper gefunden. Diese lassen sich entsprechend ihrer Spezifität nach Tabelle 3 aufteilen.

Tabelle 3

Anti-A ₁	(bei 22°C wirksam)	7
Anti-M		1
Anti-P		6
Anti-D		1
Anti-C		1
Anti-D+C		2
Anti-c		1
Anti-E		5
Anti-E + Fy ^a + Jk ^b		1
Anti-E + Le ^a		1
Anti-Le ^a		7
Anti-Le ^b		3
Anti-Le ^a + Le ^b		4
Anti-K		3
Anti-Fy ^a		1
Anti-Jk ^b + -P		1
Wärme-Autoantikörper		3
Kälte-Antikörper (bei 22°C wirksam)		7
Fragliche Spezifität		2

Tabelle 4

Häufigkeiten seltener, untersuchter Blutgruppen im
Raume Basel. 18

	Zahl der unters. Personen	% Phänotypen	% Genotypen
Lutheran- Gruppe	314	5,41 Lu(a+) 94,59 Lu(a-)	2,75 Lu ^a 97,25 Lu ^b
Kell-Gruppe	280	8,49 Kell + 91,51 Kell -	4,34 K 95,66 K
Duffy-Gruppe	417	65,95 Fy(a+) 34,05 Fy(a-)	41,65 Fy ^a 58,35 Fy ^b

Die oben wiedergegebene Tabelle 4 weist noch auf die Häufigkeit einiger seltener, untersuchter Blutgruppeneigenschaften im Raume Basel hin.

Prüft man nun die Frequenz der nach Tabelle 3 durch die Verträglichkeitsprobe erfassten Antikörper bezogen auf die Zahl der untersuchten Patienten, so ergibt sich eine Proportionalität von 0,65.

Die Häufigkeit der irregulären Antikörper kann man jedoch auf etwa 1-2% schätzen. Hierbei muss es sich allerdings um schwache, zu der Gruppe der spezifi-

schen Kälte-Antikörper gehörenden Agglutinine handeln, wie z.B. das Anti-P₁.

Natürlich könnte man die Empfindlichkeit der im Bürgerspital Basel praktizierten Verträglichkeitsmethode durch einen kombinierten Enzym-Antiglobulintest steigern oder einen zusätzlichen Test auf irreguläre Kälte-Antikörper bei 4°C durchführen. Gerade letzterer würde jedoch die Routineuntersuchungen in einem Blutgruppenlaboratorium durch den damit bedingten Mehraufwand an Zeit und Arbeit zu stark beanspruchen. Betrachten wir z.B. die prozentuale Verteilung der P-Blutgruppen, so finden wir 78% P-positive und 22% P-negative in der Gesamtbevölkerung. An Hand dieser Tatsachen ergäbe sich eine erwartungsgemässe Anhäufung der positiv ausfallenden Untersuchungsergebnisse. Die Feststellung derartiger irregulärer, kälteaktiver Antikörperspezifitäten würde jedoch auch nicht der von der Klinik geforderten Notwendigkeit entsprechen. Bis jetzt konnte nämlich, um bei unserem Beispiel zu bleiben, Anti-P₁ äusserst selten für eine haemolytische Erkrankung verantwortlich gemacht werden. ³⁰ Lediglich nach Anreicherung in der Zirkulation des Empfängers, z.B. infolge mehrfach erhaltener Transfusionen, mit einem Reaktionsoptimum von 37°C wärmeaktiv geworden, kann ein Anti-P₁ eine Verkürzung der Lebensdauer der transfundierten P-positiven Erythrocyten herbeiführen. (Moureaux, Scheibe, Gibb ³⁶ und Kissmeyer-Nielsen, Kristoffersen ²³)

Anti-Tj^a (Anti-P+P₁) stellt dagegen einen wirksamen haemolytischen, obgleich äusserst seltenen Antikörper der P-Blutgruppeneigenschaften dar. Er ist jedoch gewöhnlich bei 37°C aktiv und kann daher bei der Routine-Verträglichkeitsprobe aufgedeckt werden.

Überprüft man abschliessend noch die im Bürgerspital Basel in den Jahren 1961-1964 aufgetretenen Transfusionsreaktionen, so findet man drei Fälle mit haemolytischen Erscheinungen. Diese drei Komplikationen wurden durch Antikörper des ABO-Systems hervorgerufen. Die Ursache lag jedoch nicht in einer Unzulänglichkeit der angewandten Verträglichkeitsprobe, sondern erfolgte vielmehr durch menschliches Versagen infolge Verwechslung, beziehungsweise Fehlschriftung.

Hiermit stellt sich eine wesentliche Frage für die Transfusionstherapie: Wie hoch muss man allgemein das Risiko für den Empfänger einer Bluttransfusion bewerten?

Vielleicht ist bei dieser Betrachtung zuerst eine Gegenüberstellung mit anderen Routinemassnahmen des Klinikbetriebes angebracht. Es bietet sich nämlich folgende Frage zum Vergleich an, wie häufig ernste, ja sogar tödliche Komplikationen z.B. im Rahmen der Penicillintherapie oder der Anaesthesie auftreten. Der Patient ist auf jeden Fall auch hier einem gewissen Risiko ausgesetzt.

An Hand einer Darstellung über Penicillinnebenwirkungen aus der dermatologischen Universitätsklinik Basel ³⁹ lässt sich aus dem Penicillinverbrauch im Bürgerspital Basel trotz eines leichten Rückgangs in den letzten Jahren folgender Schluss ziehen. Der einzelne Patient erhält wesentlich mehr Penicillin als früher und damit kann man auch die Tatsache erklären, dass die Zahl der Penicillinnebenwirkungen nicht kleiner geworden ist. Todesfälle im Einzugs-

gebiet der dermatologischen Klinik Basel lassen sich nach Schuppli fast in jedem Jahr beobachten.

Nach amerikanischen Statistiken ²⁴ im Anschluss an eine Umfrageaktion in etwa einem Drittel der Krankenanstalten in den USA konnte man in der Zeitspanne von 1953-1957 793 Fälle mit anaphylaktischem Schock mit einer von Jahr zu Jahr erheblichen Anstiegstendenz feststellen. Auf Grund dieser Erhebungen ist damit zu rechnen, dass auf eine Million Injektionen ein schwerer Zwischenfall kommt, von denen wiederum 10% tödlich verlaufen.

Schreiber ³⁸ vom amerikanischen Krankenhaus Nürnberg berichtet hinsichtlich ernster Penicillinkomplikationen, dass ein anaphylaktischer Schock schätzungsweise einmal unter einer Million Behandlungen mit einer Letalität von 10 bis 20 Prozent auftritt.

Bei einer Gegenüberstellung mit dem Risiko in der Anaesthesie lässt sich für einzelne Narkotika folgende Mortalität angeben: Chloroform 1:3.000, Aether 1:mehr als 10.000, Stickoxydul 1:100.000 und Aethylen 1:300.000.

In den modernen Narkoseverfahren wird jedoch kaum noch ein Narkotikum allein verwendet. Durch Prämedikation und Kombination verschiedener Substanzen kann somit die von jedem Narkotikum benötigte Konzentration so niedrig wie möglich gehalten werden. Dadurch gelang es, die Letalität in der Anaesthesie auf 1:100.000 herabzusetzen. ²⁵

Im Transfusionswesen lässt sich allerdings nur schwer eine statistische Angabe über das genaue Ausmass des Transfusionsrisikos machen. In keinem europäischen

Land wird nämlich eine allgemein einheitliche Verträglichkeitsprobe durchgeführt und Routine und Erfahrung der einzelnen serologischen Laboratorien müssen sehr unterschiedlich gewertet werden.

Deshalb unterliegen die Zahlenangaben über haemolytische Reaktionen und Todesfälle als deren unmittelbarer Folgeerscheinung einer grossen Streubreite. Ausserdem ist zu berücksichtigen, dass in den letzten Jahren durch Einführung der Dialyse als Therapie einer posttransfusionellen Anurie deren Mortalität von 70% auf 13% erheblich gesenkt werden konnte. (Hamburger, Paris)

"In gut organisierten Spitaltransfusionsdiensten" muss jedoch nach Hässig¹⁶ immerhin mit einer Häufigkeit haemolytischer Zwischenfälle zwischen 1:20.000 und 1:30.000 gerechnet werden. Dies entspricht auch in etwa den anfangs wiedergegebenen Erfahrungen aus dem Bürgerspital Basel.

Die Inkompatibilität.

Da auf Grund der vorausgegangenen Darlegungen auch heute noch mit einer haemolytischen Transfusionsreaktion und ihren Komplikationen zu rechnen ist, ist es sicher angebracht, auf die Ursache der Haemolyse näher einzugehen.

Sie ist, in wenigen Worten ausgedrückt, das Ergebnis einer Unverträglichkeit (Inkompatibilität) zwischen einem Antigen der transfundierten roten Blutkörperchen und dem korrespondierenden Antikörper im Serum des Empfängers, beziehungsweise vice versa. Was nun allerdings die Definition des Begriffes "Inkompatibilität" betrifft, so versteht man darunter allgemein eine Verkürzung der Überlebenszeit transfundierter Erythrocyten im Kreislauf des Empfängers durch Antikörper. Von Inkompatibilität spricht man jedoch auch dann, wenn das übertragene Serum Antikörper enthält, die fähig sind, die Erythrocyten des Empfängers zu zerstören.

Die normale Lebensdauer der roten Blutkörperchen von ca. 120 Tagen ³² kann jedoch durch verschiedene Ursachen begrenzt sein.

An erster Stelle ist hier die ABO-Unverträglichkeit zu erwähnen. Die Erythrocyten erfahren in einem solchen Falle durch die in der Zirkulation des Empfängers befindlichen natürlichen Iso-Antikörper eine sofortige Zerstörung. Wird nämlich z.B. Blut der Blutgruppe A einem Empfänger der Gruppe O mit den Agglutininen Anti-A und Anti-B transfundiert, so ist das Zusammentreffen der Konstellation Anti-A und Anti-

gen-A mit Haemolyse verbunden.

Als zweite Ursache lässt sich die Rhesus-Inkompatibilität abgrenzen. In diese Gruppe gehören ebenfalls Unverträglichkeiten, die durch Auftreten irregulärer oder erworbener Antikörper hervorgerufen werden. Auch in diesem Zusammenhang ein praktisches Beispiel: Ein Rh-negativer Empfänger erhält ABO-gruppengleiches, jedoch Rh-positives (D) Blut. Infolge vorausgegangener Immunisierungen durch frühere Transfusionen sind in seinem Serum Anti-D-Antikörper vorhanden. Da keine serologische Verträglichkeitsprobe durchgeführt wurde, blieben diese unaufgedeckt. Der erwartete Anstieg des Haemoglobins trat beim Patienten nicht ein. Es ergab sich jedoch eine schleichende, über Tage hinziehende Haemolyse der transfundierten Erythrocyten.

Kurz soll auch auf die Gefahr des Universalspenders hingewiesen werden. Man weiss, dass die natürlichen Iso-Antikörper des Spenderblutes im Blute des Empfängers verdünnt werden. Nach massiven Transfusionen der Blutgruppe O oder aber nach Transfusionen einer an Anti-A-Haemolysin reichen Gruppe O an einen Empfänger z.B. der Gruppe A₁ kann es jedoch ebenfalls zur massiven Haemolyse der roten Blutkörperchen des Empfängers kommen.

Zusammenfassend lassen sich also zwei Typen von Unverträglichkeit unterscheiden. Es tritt entweder eine rasche haemolytische Reaktion unmittelbar nach der Transfusion ein oder aber der Untergang der roten Blutkörperchen vollzieht sich langsam und ohne warnende klinische Zeichen, vielleicht nur wahrnehmbar an der verkürzten Lebensdauer der transfundierten Erythrocyten.

Treten klinische Symptome auf, so äussert sich eine

unverträgliche Blutübertragung zuerst in einer Übererregbarkeit des Patienten, in Nausea, Erbrechen und rapider Temperaturerhöhung. Subikterus als Ausdruck einer Hyperbilirubinaemie, Anaemie und kompensatorische Retikuloeytose können weiterhin einen Einblick in das Ausmass der Unverträglichkeit geben. Anurie infolge Hyperhaemoglobinaemie und Haemoglobinurie mit tubulärer Nekrose, Azotaemie und Übergang zur Uraemie sind dann bereits Symptome sehr ernst zu bewertender Formen.

Eine exakte quantitative und klinische Beurteilung einer Unverträglichkeit transfundierter Blutzellen oder injizierten Plasmas mit Zerstörung der Spender- oder Empfängererythrocyten intravasal oder extravasal (durch das Retikulo-Endotheliale-System der Leber oder Milz) ermöglichen zwei Messverfahren hinsichtlich der Lebensdauer der roten Blutkörperchen.

Als solches hat Ashby² zuerst die Methode der differenzierenden Agglutination angegeben. Neuerdings verwendet man jedoch fast ausschliesslich zur Bestimmung der Überlebenszeit der Erythrocyten die Isotopenmethode mit Cr⁵¹.

Die Technik von Ashby beruht vor allem auf den tierexperimentellen Erfahrungen von Todd und White.

Ashby transfundierte Blut der Blutgruppe O an einen A-Empfänger. Anschliessend inkubierte sie das zuvor entnommene Blut mit Anti-A-Serum. Die A-Zellen wurden auf diese Weise agglutiniert und die überstehenden O-Erythrocyten konnten gezählt werden. Die Durchführung dieser Methode eignet sich für A-, B- und AB-

Blutgruppen.

Mit der Entdeckung weiterer Blutgruppeneigenschaften hat auch dieses Verfahren Varianten und Modifikationen erfahren.

So benutzte z.B. Landsteiner ^{27,28} dasselbe Vorgehen bei homocygoten M-oder N-Spendern und-Empfängern mit den entsprechend entgegengesetzten Antigenen und inkubierte anschliessend mit Anti-M, beziehungsweise mit Anti-N-Serum.

Auch haemolysierende Antiseren wurden zum Zählen der überlebenden Spendererythrocyten benutzt.^{20,43} Man fand nämlich heraus, dass es einfacher ist, die Empfängerzellen zu haemolysieren als zu agglutinieren. Falls ausserdem genügend Komplement in den Haemolyse-Testseren anwesend ist, so gibt die Differenzierung durch Lyse dieselben Resultate wie mit Hilfe der Agglutination.

Dacie und Mollison ⁷ modifizierten dann noch die Methode von Ashby durch die Verwendung der Zentrifuge, um die Agglutination zu erhöhen.

In der Ausführung der oben besprochenen Verfahren stehen dabei zwei Möglichkeiten zur Verfügung, eine Unverträglichkeit zu erkennen. Entweder man zählt die nicht agglutinierten Spendererythrocyten. Dies bezeichnet man als indirekte Methode. Oder aber man verwendet die direkte Methode. In diesem Falle agglutiniert man die Spenderzellen mit einem Serum, das nicht mit den eigenen roten Blutkörperchen des Empfängers reagiert. Letzteres Vorgehen hilft hauptsächlich in qualitativer Hinsicht, eine Unverträglichkeit aufzudecken.

Die Methode der differenzierenden Agglutination ist allerdings langwierig und hat, wie bereits angeführt, heute fast gänzlich dem weitaus gebräuchlicheren Verfahren zur Bestimmung der Erythrocytenlebensdauer mit ^{51}Cr Platz gemacht. ¹²

Mollison hat nun hierzu eine Methode angegeben, die eine befriedigende und rasche Aufnahme des Isotopen ^{51}Cr in die Erythrocyten garantiert und die deshalb kurz angeführt werden soll. Man wäscht eine gewisse Menge von Zellen mit einer gepufferten Zitratlösung im optimalen Milieu (pH 6,9) und im Verhältnis der Zellen zur Lösung von 1:10. Dann bereitet man eine erneute Aufschwemmung der Erythrocyten in einer äquivalenten Menge Zitrat und inkubiert bei optimaler Temperatur von 37°C für 10 Minuten mit $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$. Während dieser Periode sind über 95% des ^{51}Cr von den Beta-Polypeptidketten des Haemoglobins aufgenommen. Anschliessend werden die so markierten Erythrocyten zweimal in steriler isotonischer NaCl-Lösung gewaschen. Dann werden sie erneut bis zu einem Volumen von 25 ml in Kochsalz aufgeschwemmt und 20% dieser Suspension in eine Cubitalvene injiziert. Bei normalen Personen findet innerhalb von ca. drei Minuten eine vollständige Mischung statt. Mollison gibt jedoch als Sicherheitsgrenze eine Wartezeit von 10 Minuten an.

Die Bestimmung der Überlebenszeit erfolgt durch Aktivitätsmessung von Blutproben mit Hilfe eines Szintillationszählers. Man misst zuerst die Radioaktivität nach der Mischungszeit von 10 Minuten und erhält damit einen Ausgangswert. Um sich ein genaues Bild über die Überlebenszeit der roten Blutkörperchen machen zu können, muss

man den Aktivitätsabfall über längere Zeit verfolgen. Bei der Verwendung von ^{51}Cr besteht allerdings der Nachteil, dass die Information über die Lebensdauer der Erythrocyten bei einer notwendigen Beobachtung über eine längere Zeitspanne hinweg ziemlich eingeschränkt ist. Dies hängt damit zusammen, dass das Isotop Chrom lediglich eine Halbwertszeit von $27\frac{1}{2}$ Tagen besitzt. So sind nämlich nach dieser Periode normalerweise bereits 50% der Dosis durch Erythrocytenabbau aus dem Kreislauf eliminiert. Zusätzlich hat das in den Erythrocyten verbleibende ^{51}Cr die Hälfte seiner ursprünglichen Aktivität eingebüsst. Demnach beträgt nach ca. 30 Tagen die Zählrate nur mehr annähernd 25% der unmittelbar nach der Injektion beobachteten.

Gegenüber anderen Bestimmungsmethoden hinsichtlich der Lebensdauer der roten Blutkörperchen mit Hilfe von Isotopenmarkierung (^{59}Fe Halbwertszeit von 46 Tagen und ^{15}N -glycin mit einem Anwendungsbereich vor allem über Informationen des Haemoglobinmetabolismus) hat das ^{51}Cr den Vorteil, dass es nach Freiwerden aus den zerstörten Erythrocyten von anderen roten Blutkörperchen nicht wieder aufgenommen wird. 9,33 Vermutlich wird dabei das 6-wertige Chrom durch reduzierende Plasmasubstanzen in die 3-wertige Form übergeführt und dann an ein Plasmaprotein gebunden. Das im Plasma vorliegende 3-wertige ^{51}Cr wird von den Erythrocyten nicht aufgenommen. 19,41

Zur Frage der Elimination lässt sich noch sagen, dass sich hier zwischen Kindern und Erwachsenen kein Unterschied zeigt. Bei Neugeborenen hingegen beobachtet man eine raschere Elution des markierten Chrms aus den Erythrocyten des Nabelschnurblutes. Dies hängt wohl mit den Polypeptidketten des fetalen Haemoglobins zusammen. Es weist nämlich gegenüber den Beta-ketten des Erwachsenenhaemoglobins zwei Gammaket-

ten auf.

Wie aber kann man eine Inkompatibilität erfolgreich vermeiden?

Als prophylaktische Massnahmen muss man hier an erster Stelle erwähnen: eine peinlich genaue Blutgruppenbestimmung und einen korrekten Nachweis der Kompatibilität durch den serologischen Verträglichkeitstest vor jeder Transfusion.

Bei zweifelhaften serologischen Reaktionen, vor allem, wenn in der Anamnese bereits mehrere Blutübertragungen angegeben werden und Immunantikörper mit den üblichen Testseren gefunden werden, soll auf jeden Fall eine Inkompatibilität mit Hilfe markierter Erythrocyten ausgeschlossen werden.

Neben der Aufnahme einer exakten Anamnese hinsichtlich früherer Transfusionen soll man bei weiblichen Empfängern auch immer nach ev. aufgetretenen Schwangerschaftskomplikationen infolge Blutunverträglichkeit zwischen Mutter und Feten fragen.

Ein Punkt darf jedoch keineswegs unterschätzt werden: die Möglichkeit eines menschlichen Versagens. Daher soll die Blutkonserve stets eine gut lesbare Etikette tragen und vor jeder Transfusion eine genaue Kontrolle der Blutgruppenzugehörigkeit des Spenders und Empfängers durchgeführt werden. Eine sehr langsame Injektion der ersten 20-50 ccm Blut und eine aufmerksame Beobachtung des Empfängers während dieser Zeit gehören ebenfalls zu einer erfolgreichen Prophylaxe.

Die Verträglichkeitsprobe

Bevor nun auf diese bedeutende und zuverlässige Methode zum Vermeiden einer haemolytischen Transfusionsreaktion eingegangen wird, ist wohl eine genauere Erläuterung dieses Begriffes angebracht.

Allgemein versteht man unter dem Verträglichkeitstest oder der Kreuzprobe die vor der Bluttransfusion angesetzte serologische Untersuchung. Diese wird als "Major-Test", d.h. eine Prüfung zwischen dem Empfängerserum und den Blutkörperchen des Spenders, sowie als Ansatz des Spenderserums gegen die Erythrocyten des Empfängers, dem "Minor-Test", durchgeführt.

Eine einheitliche, routinemässig angewandte und empfindliche Technik ist noch nicht Allgemeingut in Klinikbetrieben geworden. Deshalb soll nochmals auf die anfangs erwähnten Ergebnisse der Universitätskliniken des Bürgerspitals Basel vor und nach der regelmässigen Durchführung einer Verträglichkeitsprobe hingewiesen werden. Diese Resultate sprechen nämlich deutlich für eine erfolgreiche Erfassung von Antikörpern mit einer Methode, die dort mit Hilfe eines 3-Phasen-Testes durchgeführt wird.

Mit einem im Routinebetrieb relativ geringen Zeit- und Arbeitsaufwand und mit den Erfahrungen von 10 Jahren sei sie darum an dieser Stelle zur Empfehlung wiedergegeben. Sie wird jedoch nur als "Major-Test" angesetzt. Dem Bürgerspital ist nämlich das

Blutspendezentrum Basel-Stadt des Schweizerischen Roten Kreuzes angeschlossen. In dem dortigen immunhaematologischen Laboratorium werden die Blutproben der Spender auf irreguläre Antikörper getestet. Auf diese Weise erübrigt sich der "Minor-Test" vor der Blutübertragung.

Methodik der Verträglichkeitsprobe

Für jede Verträglichkeitsprobe werden 2 Röhrchen (5x50 mm) verwendet. In diesen werden 2 Tropfen frisches (oder im frischen Zustande eingefrorenes) Empfängerserum + 2 Tropfen 30%-ige Rinder-Albumin-Lösung + 2 Tropfen Spendererythrocyten-Suspension in physiologischer Kochsalz-Lösung angesetzt.

1. Stufe: Beide Röhrchen werden bei 1000 U/Min. zentrifugiert. Daraufhin wird das erste Röhrchen makroskopisch auf allfällige Agglutination oder Haemolyse untersucht.

2. Stufe: Anschliessend werden beide Röhrchen eine halbe Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Das erste Röhrchen wird dann nach Entnahme aus dem Wasserbad 1 Minute bei 1000 U/Min. zentrifugiert und mikroskopisch auf Agglutination geprüft.

3. Stufe: Das zweite Röhrchen wird im Antiglobulin-Test weiterverarbeitet. Nach dem Entfernen aus dem Wasserbad füllt man es mit physiologischer Kochsalz-Lösung auf und zentrifugiert es mit hoher Geschwindigkeit eine Minute lang. Die überstehende Flüssigkeit wird daraufhin entfernt und dieser Waschvorgang insgesamt dreimal durchgeführt. Nach dem letzten Waschen wird die überstehende Flüssigkeit möglichst vollständig dekantiert. Von dem Erythrocyten-sediment bringt man dann einen Tropfen auf ein Feld einer Opalglasplatte. Dazu fügt man anschliessend einen Tropfen eines Antiglobulinserums in optimaler Verdünnung, vermischt und liest spätestens nach 5 Minuten unter fortwährend leichtem Schwenken ab.

Aus dieser Darstellung der Technik der Verträglichkeitsprobe kann man ersehen, dass der Antiglobulin-Test nach einer vorausgegangenen Inkubation mit 30%-igem Rinder-Albumin durchgeführt wird. Infolge des Albuminzusatzes liessen sich bisher noch nie Störungen oder unspezifische Reaktionen feststellen.

Sinn und Zweck der Kreuzprobe.

Wie sich an Hand der oben wiedergegebenen Methodik ergibt, setzt sich die Verträglichkeitsprobe aus 3 Phasen zusammen: der Protein-, Thermo- und Antiglobulinphase. Zusätzlich bringt die Durchführung dieses Testes mit z w e i Röhrchen alle Möglichkeiten mit sich, unter geringstem Zeitaufwand den Reaktionsbereich aller bekannten Blutgruppeneigenschaften zu erfassen.

Weshalb jedoch dieser Aufbau in drei verschiedene Phasen?

Er hat einmal seinen Grund darin, dass man mit der ersten Stufe folgende Unverträglichkeiten ausschliessen kann:

1. Inkompatibilität innerhalb des ABO-Systems.
2. Inkompatibilität hervorgerufen durch Kälte-Antikörper, wie z.B. durch Anti-M, Anti-N und Anti-P₁ oder aber auch durch die oft haemolytisch aktiven Lewis-Antikörper.
3. Nachweis von Rhesus-Antikörpern mit Prozoneneffekt.

Hochtitrige Rhesus-Antikörper können nämlich bei Anwesenheit von gleicher Menge Antigen alle verfügbaren Bindungsstellen des Antigens besetzen, so dass in niedrigen Serumsverdünnungen ein negatives Ergebnis vorgetäuscht werden kann. Durch sofortiges Zentrifugieren ohne Inkubation lässt sich dieses Phänomen jedoch ausschalten.

Die Interpretation einer positiven Reaktion in der zweiten Stufe ist gewöhnlich durch das Vorhanden-

sein eines niedrigtitrigen Rhesus-Antikörpers bedingt, der ansonsten auf sofortiges Zentrifugieren nicht anspricht. Ausserdem reagieren gewisse Rhesus-Antikörper (Anti-c, Anti-E und einige Anti-D) gelegentlich nur in einem Albuminmedium und nicht im Antiglobulintest.

In der 3. Stufe lassen sich schliesslich Antikörper erfassen, die nur in dieser Phase reagieren, wie z.B. Anti-Fy^a, Anti-JK^a, Anti-K, gewisse Anti-Lewis etc., sowie Antikörper des Rhesussystems. Ebenfalls werden hier Autoantikörper gefunden, die z.B. bei erworbenen hämolytischen Anaemien vorkommen.

Begründung der Durchführung der Verträglichkeitsprobe

Nach dem bisher Gesagtem kann man demnach folgende Gesichtspunkte als Begründung der Verträglichkeitsprobe anführen.

Die Blutübertragung hat in einem derart umfangreichen Ausmasse zugenommen und ist als wirkungsvolles therapeutisches Verfahren aus dem Klinikbetrieb nicht mehr wegzudenken. Andererseits hat die Zahl der erworbenen Antikörper infolge von Fremdblutinjektionen, heterospezifischen Schwangerschaften oder durch Stimulation gewisser in der Natur vorkommender Substanzen, die A- oder B-ähnliche Antigeneigenschaften aufweisen, eine ziemlich Verbreitung erfahren. Nach Griffitts ¹³ muss jede Transfusion als eine poten-

tielle Möglichkeit einer Immunisierung betrachtet werden. Nach seinen Angaben ist nämlich die Chance, einer Person genau das ihr entsprechende, in den bedeutendsten Gruppen gleiche Blut zu übertragen, geringer als 1:100.000. Dabei handelt es sich jedoch lediglich um Blutfaktoren, bei denen zu erwarten ist, dass sie zur Antikörperbildung Anlass geben könnten.

Darum trägt ein Blutgruppenlaboratorium eine hohe Verantwortung. In diesem Zusammenhang kommen v.a. zwei Punkte in Betracht, die für die Durchführung einer Verträglichkeitsprobe von massgebender Bedeutung sind.

Eine Transfusionsreaktion lässt sich einmal durch die Möglichkeit, mit Hilfe einer Kreuzprobe im Serum vorliegende Antikörper zu erfassen, weitgehend verhindern. Auch das Transfusionsrisiko für den Patienten wird durch die Feststellung einer ev. Inkompatibilität stark eingeschränkt.

Neben dem Ausschalten von echten haemolytischen Reaktionen hat die Verträglichkeitsprobe aber noch eine zweite zweckdienliche Aufgabe. Sie soll sicherstellen, dass die Spenderblutkörperchen im Kreislauf des Empfängers überleben.

Es sind nämlich auch weniger schwerwiegende, serologisch bedingte Transfusionsreaktionen bekannt, die sogar ohne klinische Symptome verlaufen. Dabei kann man lediglich feststellen, dass die Spendererythrocyten infolge einer Unverträglichkeit schnellstens aus dem Kreislauf des Empfängers eliminiert werden. Dies entspricht aber ganz und gar nicht dem Zwecke einer erfolgreichen Therapie in der Blutübertragung.

Somit hat die Verträglichkeitsprobe auch die Aufgabe, dem Patienten neben einer Bewahrung vor einer haemolytischen Transfusionsreaktion den lebensrettenden oder auf jeden Fall gesundheitsfördernden Nutzen einer erhaltenen Blutübertragung zu gewährleisten.

Zwei Bedingungen bei der Anwendung der Verträglichkeitsprobe müssen allerdings erfüllt sein: eine hohe Empfindlichkeit und eine rasche Durchführbarkeit. Diese beiden Kriterien sind jedoch gerade in der beschriebenen Methode gegeben.

Prinzipielle Punkte zur Durchführung der Verträglichkeitsprobe hinsichtlich

- a) der Blutgruppen- und Rhesusbestimmung, sowie
- b) Dringlichkeitssituationen.

1. Blutgruppen- und Rhesusbestimmung, auch wenn bekannt, neu testen.

Man muss nämlich berücksichtigen, dass eine der Hauptursachen heutzutage für haemolytische Transfusionszwischenfälle im versehentlich falschen Ablesen der serologischen Reaktion und im falschen Beschriften der Spender- oder Empfängerproben, d.h. im Bereich des menschlichen Versagens liegt. Deshalb soll man sich zur eigenen und des Patienten Sicherheit nicht auf fremde Angaben verlassen.

2. Als notfallmässige Anti-Schocktherapie kann ohne Kreuzprobe PPL, Albumin oder ein entsprechender Plasmaexpander verabreicht werden.
3. Eine Übertragung von Blut der Gruppe 0 im Sinne

einer Universalspendergruppe soll nur in dringlichen Situationen Verwendung finden. Da in solchen Fällen die Zeit für jegliches Testen als fehlend angenommen wird, so sollte das in Frage kommende Spenderblut der Gruppe 0 rhesus-negativ und frei von Haemolysinen sein. Ausserdem soll der Isoagglutinin-Titer nicht über 1:50 sein.

4. Als letzte, aber immer noch bedeutende Sicherung bei notfallsmässig durchgeführten Transfusionen ohne Möglichkeit einer serologischen Feststellung der Gruppenverträglichkeit ist die biologische Probe nach Oehlecker ³⁴ zu betrachten. Man überträgt zu Beginn der Transfusion möglichst schnell etwa 10 - 20 ccm Spenderblut. Dann beobachtet man den Patienten 2 Minuten sorgfältig. Treten nach dieser Zeit schockartige Erscheinungen auf, so liegt Haemolyse vor. Der Sicherheit halber kann bei vorübergehend schockähnlichen Symptomen eine zweite grössere Probedosis von etwa 30 - 50 ccm Blut injiziert werden. Bei Patienten in Narkose ist diese Probe allerdings nicht verwertbar.

Ansonsten aber gelte:

5. Keine Transfusion ohne Verträglichkeitsprobe. Auch wenn nur geringe Zeit zur Verfügung steht, so sollte doch ein Schnell-Test durchgeführt werden. Ist dies unmöglich, so sollten auf jeden Fall nach der Blutgruppen- und Rhesusbestimmung sämtliche Routine-Kreuztestverfahren angesetzt

werden, so dass bei ev. positivem Ausfall die Transfusion sofort abgebrochen werden kann.

6. Verträglichkeitsprobe auch dann, wenn vom gleichen Spender vorher Blut anstandslos übertragen wurde. Hierfür sprechen folgende Gründe: auch bei wiederholtem Heranziehen von gleichen Spendern mit jeweils gleicher Antigenzusammensetzung der Erythrocyten für ein und denselben Empfänger können Sensibilisierungsvorgänge in Gang gesetzt und verstärkt werden. Durch eine immer wieder durchgeführte Verträglichkeitsprobe ist es jedoch möglich, derartige Reaktionen rechtzeitig aufzudecken.

Deshalb sollte auch bei mehreren Blutübertragungen für den gleichen Empfänger vor jeder Transfusion die Verträglichkeitsprobe durchgeführt werden und zwar mit einer jeweils frisch entnommenen Serumprobe.

7. Anwendung der Röhrchenmethode.

Nach Levine ³⁰ sollte der Objektträgerverträglichkeitstest keine Verwendung mehr finden. Ein im Empfängerserum vorhandener schwacher Antikörper könnte nämlich sehr leicht übersehen werden. Er könnte jedoch für eine Transfusionsreaktion verantwortlich sein und es soll keine Ermessensfrage irgendeiner Statistik sein, wenn eine Transfusionskomplikation mit einem Risiko für das Leben des Patienten durch die Anwendung einer empfindlicheren Technik hätte vermieden werden können.

8. Durchführung von mindestens

aa) einem Agglutinationstest bei 22°C in physiologischer NaCl-Lösung und

bb) dem indirekten Antiglobulin-Test bei 37°C.

Empfehlenswert: ein zusätzlicher Enzym-Test.

9. Spezifität der ev. gefundenen Antikörper abklären und zwar, falls erforderlich, unter Zuziehung eines Referenzlaboratoriums.

Das Albumin in der Verträglichkeitsprobe.

Will man die anerkannte Bedeutung des Albumins für die serologische Untersuchungsmethode in einem eigenen Kapitel würdigen, so muss man sich zuerst einige historische Tatsachen vergegenwärtigen.

Die Einführung des Albumintestes liegt nämlich noch nicht allzu lange zurück. Erst im Jahre 1947 wurde er als Routineuntersuchung eingeführt und erfuhr von diesem Zeitpunkt an seine Verbreitung und Anwendung im blutgruppenserologischen Laboratorium. Der Wendepunkt in der Entwicklung der serologischen Untersuchungstechnik begann aber eigentlich im Jahre 1939. Damals wurde von Levine und Stetson ³¹ im Serum einer Frau post partum ein Antikörper entdeckt. Seine Spezifität erwies sich als identisch mit dem beim Kaninchen erzeugten Agglutinin nach Sensibilisierung mit roten Blutkörperchen vom Rhesusaffen und führte zur Auffindung des Rh₀ oder D-Antigens.

Mit dem Wissen um Rhesusantikörper und der Rhesusbestimmung war jedoch das Problem noch nicht gelöst, Transfusionsreaktionen gänzlich zu vermeiden, die im Zusammenhang mit dem Rhesussystem standen. Man erlebte nämlich immer wieder haemolytische Erkrankungen bei Neugeborenen ohne demonstrierbare Antikörper im mütterlichen Serum oder haemolytische Transfusionszwischenfälle ohne deutliche Agglutination beim Verträglichkeitstest.

Im Jahre 1944 war es dann Elliott¹⁰ und ein Jahr später Diamond und Denton⁸, die in die damals angewandte Technik der Riesusantikörperbestimmung das Albumin einföhrten und den durch das Albumin gesteigerten Reaktionseffekt entdeckten. Einen weiteren Beweis für die Bedeutung, Albumin bei serologischen Untersuchungen zu verwenden, lieferte wiederum Elliott drei Jahre später¹¹.

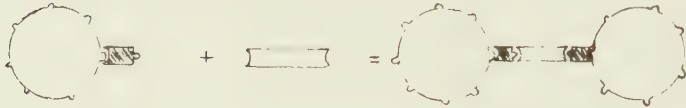
Nach einer haemolytischen Transfusionsreaktion, verursacht durch ein Anti-C, das in der mit Kochsalz durchgeföhrten Kreuzprobe nicht erfasst wurde, zeigte sich erneut eine gesteigerte Empfindlichkeit der Reaktion mit inkompletten oder blockierenden Antikörpern bei Zugabe von Rinder-Albumin zu der Serum-Zell-Mischung.

1945 wurde dann von Coombs, Mourant und Race^{5,6} der Antiglobulin-Test wiederentdeckt und als weitere Verfeinerung und Verstärkung der Laboratoriumsmethoden zur Antikörperbestimmung eingeföhrte. Die unten folgenden Schemata veranschaulichen die Funktion und die Anwendungsmöglichkeiten dieses Testes.

Nun benötigte es nur noch kurze Zeit, um das Albumin ebenfalls beim Antiglobulin-Test anzuwenden. Grove-Rasmussen und Soutter¹⁵ zeigten nämlich, dass das Albumin der Serum-Zell-Mischung beigelegt eine anschliessende Antiglobulin-Testreaktion verstärke. Dies wurde später auch von anderen Forschern bestätigt.

So hat vor allem Griffiths mit seinen Mitarbeitern einen deutlichen Beweis für die Empfindlichkeitssteigerung des Albumin-Antiglobulintestes gegen-

I. Direkter Antiglobulin-(Coombs-) Test



Mit inkompletten
Antikörpern
beladene
Erythrocyten

Antigamma-
globulin
(Coombs-
Serum)

Positiver Antiglobu-
lin-(Coombs-)Test

II. Indirekter Antiglobulin-(Coombs-) Test

1. Phase (Aufladung oder Sensibilisierung)

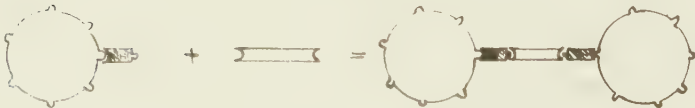


Inkomplette
Antikörper
im Serum

Testerythrocyten (mit
korrespondierenden
Antigenen)

Die inkompletten
Antikörper binden
sich an die Test-
erythrocyten

2. Phase (Bindung)



Mit inkompletten
Antikörpern
beladene
Erythrocyten

Antigamma-
globulin
(Coombs-
Serum)

Positiver Antiglo-
bulin-(Coombs-)Test

über dem mit Kochsalz durchgeführten Antiglobulin-Test geliefert. ¹⁴

Bei den von ihnen untersuchten Antikörpern konnten 98% mit dem Antiglobulin-Test demonstriert werden, wenn die Serum-Zellmischung vorher mit Albumin inkubiert wurde. 15,7% dieser Antikörper liessen sich dagegen im einfachen Kochsalz-Antiglobulintest nicht nachweisen. Diese Prozentangaben beziehen sich auf 306 untersuchte Antikörper diverser Spezifitäten. Hamrick ¹⁷ berichtet von einem Neugeborenen mit Immun-Anti-A und -Anti-D im Serum. Auch in diesem Falle ergab erst nach der Inkubation der Serum-Zell-Suspension mit 22%-igem Rinder-Albumin der indirekte Antiglobulin-Test ein positives Ergebnis.

Ein Verstärkung der Reaktion und in manchen Fällen überhaupt die einzige Möglichkeit, den Nachweis für vorhandene inkomplette Antikörper zu erbringen, lassen die Bedeutung der Albuminwirksamkeit im Antiglobulin-Test und somit die Empfindlichkeitssteigerung der Verträglichkeitsprobe offensichtlich erkennen.

Wirkungsmechanismus des Albumins bei der Haem-
agglutination.

Neben den unmittelbar zuvor erwähnten experimentellen Erfahrungen über den Albumineinfluss in der zweiten Phase der Verträglichkeitsprobe liegen nun neue Untersuchungen von Pollack und seinen Mitarbeitern ³⁵ vor, die hinsichtlich der physikalisch-chemischen Vorgänge in dieser Stufe der serologischen Reaktion eine wesentliche wissenschaftliche Erklärung der Hämagglutination erkennen lassen.

Dazu zuerst einige Erläuterungen. Kabat und Meyer ²¹ haben die Dimensionen der 19S Antikörper mit etwa $950 \times 47 \text{ \AA}^0$ und die der 7S mit etwa $250 \times 47 \text{ \AA}^0$ angegeben. Darauf beruht die Vorstellung, dass die 19S oder "kompletten" Antikörper interzelluläre Distanzen von ca. $900-1000 \text{ \AA}^0$ überspannen können und diese Brücken die roten Blutkörperchen zusammenzuhalten vermögen. Andererseits erreichen die 7S Antikörper in NaCl-Suspensionen gewöhnlich nicht die Fähigkeit, die abstossenden Kräfte zwischen den in der Nähe des Neutralpunktes negativ geladenen Erythrocyten zu überwinden.

Um daher hinsichtlich der 7S oder "inkompletten" Antikörper eine Agglutination zu erreichen, muss man die Proteinkonzentration des Reaktionsgemisches durch Albumin erhöhen oder die Erythrocyten vorher mit einem proteolytischen Enzym

behandeln oder aber mit über mindestens 8000-facher Erdbeschleunigung zentrifugieren. Dadurch werden die Zellabstände verringert und die 7S Antikörper können ebenfalls interzelluläre Proteinbrücken ausbilden.

Daneben spielt aber auch der Sitz der Antigene an der Erythrocytenoberfläche eine grosse Rolle. 7S Anti-A und Anti-B der Gruppe O zeigen nämlich bereits in einer NaCl-Suspension von roten Blutkörperchen Agglutination. Andererseits ist häufig eine hohe Proteinklösung für eine Agglutination bestimmter Immun-Antikörper ungenügend und es ist ein Antiglobulintest erforderlich. Die Antigene sind daher in den Krypten der Erythrocytenoberfläche stufenweise angeordnet zu denken.

Tritt nun eine Agglutination ein, so gehen dabei zwei Oberflächen eines bestimmten Ausmasses verlustig und der mit der Oberfläche verbundene Energiegehalt wird frei. Nach dem zweiten Gesetz der Thermodynamik ist aber ein System nur dann im Gleichgewicht, wenn die freie Energie ein Minimum beträgt. Die Oberflächenspannung der Blutzellen bleibt jedoch wahrscheinlich bei allen in der Serologie üblichen Methoden unverändert und ist daher als Kohäsionskraft für eine Agglutination nicht verantwortlich.

Dagegen hat man als abstossende Komponente die Erythrocytenladung zu berücksichtigen. Diese wächst mit der Ionisierung der Karboxylgruppen an der Oberfläche und gehorcht dem Coulomb'schen Gesetz.

Allgemein gesprochen hängt also eine interzelluläre Agglutination homogener Suspensionen biologischer

Partikel von den Kräften zwischen den Partikeln und den Kräften zwischen den Partikeln und dem Suspensionsmedium ab. ³

Allerdings erweist sich die Erythrocytenoberfläche in einem pH-Bereich von 5-8 als absorptive Membran gegenüber ionisierten Molekülen relativ inert. ^{1,4}

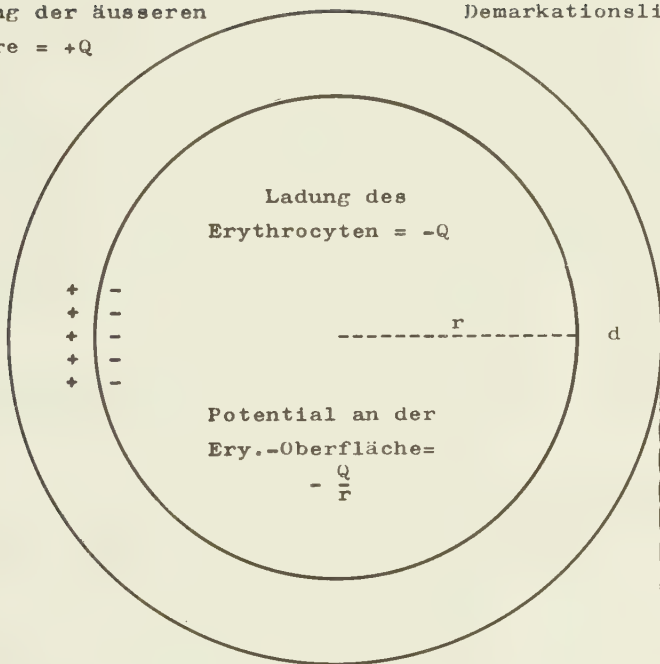
Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass die Oberflächenladung der roten Blutkörperchen in Gegenwart von Albumin unbeeinflusst bleibt. ⁴

Nach Smoluchowski ⁴⁰ besteht aber in Anwesenheit von Elektrolyten eine elektrische Doppelschicht um jeden Erythrocyten. Diese besteht einerseits aus dem neg. geladenen Erythrocyten und andererseits aus der umgebenden diffusen Kationenwolke. Letztere bewegt sich teilweise mit dem roten Blutkörperchen und die Demarkationslinie dieser Hülle gegenüber dem übrigen Medium bestimmt zugleich die Dicke der Doppelschicht. Die abstossende Kraft zwischen zwei Erythrocyten hängt daher nicht so sehr vom Oberflächenpotential des roten Blutkörperchens ab, sondern vielmehr vom Potential an der Demarkationslinie.

Es besteht also eine elektrisch-energetische Reibungsoberfläche, deren Potential als elektrokinetisches oder Zeta-Potential bezeichnet wird. Dieses Potential bestimmt die Stabilität einer Erythrocytensuspension und ist damit abhängig von der Ladungsdichte der umgebenden Kationen, d.h. der Ionenaktivität. So bewirkt ein Anstieg der Ionenkonzentration einen Anstieg der Kationenladungsdichte, während die Dicke der Doppelschicht, das Zeta-Potential und somit auch die elektrischen Abwehrkräfte abnehmen. Dabei ist für eine

Ladung der äusseren
Sphäre = $+Q$

Demarkationslinie



Agglutination menschlicher Erythrocyten für 19S Agglutinine ein kritisches Zeta-Potential von 18-20 Millivolt und für inkomplette Rhesus-Antikörper (7S) ein solches von 8-9 Millivolt erforderlich.

Die Proteasenreaktion beruht nun auf dem oben geschilderten Effekt, das Zeta-Potential zu senken. Der reduzierenden Wirkung der Dielektrizitätskonstanten auf das Zeta-Potential liegt jedoch ein anderer Mechanismus zu Grunde. Dieser ist von den folgenden Beziehungen abhängig.

Einerseits besteht eine direkte Proportionalität zwischen dem Strömungspotential und folgenden Faktoren: der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit, der Ladungsdichte an der Erythrocytenoberfläche und der Dicke der Doppelschicht. Daneben ist das Zeta-Potential umgekehrt proportional zur Dielektrizitätskonstanten.

Dazu noch ein Schema der Faktoren, die eine Reduktion des Zeta-Potential der Erythrocyten bewirken.

Reduktion der Oberflächen-
ladung durch

1. Absorption von Antikörpern
2. Enzymvorbehandlung

Veränderungen im Re-
aktionsmedium durch

1. Erhöhung der Ionen-
konzentration
2. Erhöhung der Dielek-
trizitätskonstanten

Durch Erhöhung der NaCl-Konzentration über 0,17 m könnte man also einen Effekt auf das Zeta-Potential ausüben. Dem dürfte jedoch entgegengehalten werden,

dass damit zugleich mit der Abnahme des an die Erythrocyten absorbierten Antikörpergehaltes eine ungewollte Nebenwirkung verbunden ist.

In diesem Zusammenhang ist es auch wertvoll, die Veränderungen folgender Komponenten hinsichtlich ihrer Bedeutung für die Antikörperbindung der roten Blutkörperchen zu betrachten.

Faktoren, die eine Antikörperbindung bewirken:	Optimale Bedingung verbunden mit maximaler Bindung	Veränderung des Optimums verbunden mit abnehmender Bindung
--	--	--

<u>Ionenkonzentr.:</u>	unter 0,05	Erhöhung
<u>pH:</u>	6,7	Erhöhung o. Senkung
<u>Dielektr.-Konst.:</u>	über 80	Abnahme
<u>Temperatur:</u>	0-1°C	Erhöhung

Eine Änderung des Suspensionsmediums durch den Zusatz von Rinder-Albumin ist nun nach den Untersuchungen von Pollack mit einer Erhöhung der Dielektrizitätskonstanten verbunden. Dies bewirkt jedoch nach den oben angeführten Beziehungen eine Abnahme des Zeta-Potentials, was wiederum eine Verringerung der Doppelschichtdistanz und des Zellabstandes zur Folge hat. Pollack ging daher davon aus, den Wirkungsmechanismus des Albumins in Abhängigkeit von der elektrophoretischen Beweglichkeit der Erythrocyten zu sehen. Als massgebender Faktor spielt somit bei der Hämagglutination der Einfluss des Albumins auf die potentielle Energie zwischen den roten Blutkörperchen eine tra-

gende Rolle. So steigen zwar wegen des metastabilen Gleichgewichtszustandes bei einer Abnahme des Zellabstandes d zuerst die energetischen Abwehrkräfte an. Schrumpft jedoch d unter den oben angegebenen Bedingungen dann noch mehr, so bricht das entstandene Energieniveau zusammen und es tritt eine Verschmelzung der vorher trennenden Doppelschichten ein. Die Reduktion der potentiellen Energie durch Senkung des Zeta-Potentials auf den für 7S Antikörper erforderlichen kritischen Wert ermöglicht auf diese Weise nach Zusatz von Rinder-Albumin die Ausbildung interzellulärer Brücken.

Wie steht es allerdings mit dem Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen der Albuminlösung auf den oben wiedergegebenen Wirkungsmechanismus?

Vom Experiment her gesehen ist die Reaktionsbereitschaft bei Zusatz einer 30%-igen gegenüber einer 20%-igen Albuminlösung nach den Arbeiten von Griffiths und eigenen Ergebnissen deutlich gesteigert. Die verwendeten Lösungen weisen jedoch zum Ausschluss unspezifischer Nebenwirkungen, Verklumpungen und Schlierenbildungen einen hohen Reinheitsgrad auf und erfordern deshalb wohl eine höhere Konzentration, um eine hohe Dielektrizitätskonstante zu gewährleisten. Oder aber die Erhöhung der Konzentration übt doch einen direkten Einfluss auf die elektrokinetischen und energetischen Vorgänge aus, ev. durch Bereitstellung von zusätzlich wirksamen Ionengruppen. Wegen seines komplexen Molekülverbandes kann man wohl sowieso eine phys.-chem. Wechselwirkung zwischen Albumin, Erythrocyten und Antikörper nicht gänzlich ausschliessen. Allgemein dürfte man auch einen gewissen Einfluss des Albumins auf die Antikörperbindung annehmen. Doch diese Frage ist ebenfalls noch zu wenig untersucht.

Experimentelle Arbeiten mit folgender Fragestellung:

- a) Verwendung von 30%-igem oder 20%-igem Rinder-Albumin
- b) Einfluss des Albumins auf den Antiglobulin-Test
- c) Bedeutung der Albuminersatzmethode und eines zusätzlichen Enzymtestes für die Kreuzprobe.

Nach den vorausgegangenen Erwägungen über Antikörpererfassung, Transfusionsrisiko, Inkompatibilität, Verträglichkeitsprobe und Rolle des Albumins in der serologischen Untersuchung sollen in diesem Zusammenhang einige Möglichkeiten geprüft werden, die für die Durchführung einer ausgewogenen und exakten Technik der Kreuzprobe eine Rolle spielen.

Die Ergebnisse über die Wirkung des Rinder-Albumins zur Steigerung der Empfindlichkeit im Nachweis von Antikörpern stützen sich dabei neben eigenen Experimenten vor allem auf die Resultate und Erfahrungen von Griffitts und seinen Mitarbeitern ¹⁴⁾ über dieses Thema.

Dieser Forscherkreis hat während der letzten drei Jahre eine Studienreihe über Serum-Zell-Albumin-Mischungen unternommen und für diese Untersuchungen 453 Antikörper getestet.

Meiner Arbeit lagen 15 Antikörper zugrunde, die nach folgenden Gesichtspunkten untersucht wurden.

Zuerst wurde eine Versuchsreihe angesetzt mit der Fragestellung, ob das 30%-ige Rinder-Albumin gegenüber dem 20%-igem einen Vorteil für die Verträglich-

keitsprobe bedeutet und ob es eine wesentliche Verstärkung der serologischen Reaktion herbeiführt. Ein weiteres Problem sollte hinsichtlich der Anwendung von Albumin beim Antiglobulin-Test geprüft werden: ob nämlich die Anwesenheit des Albumins den Antiglobulin-Test stört und welchen Einfluss das Albumin auf die Reaktion des Antiglobulintestes ausübt.

Schliesslich sollte dann noch die Albuminersatzmethode gegenüber dem üblichen Albumintest und die Bedeutung einer zusätzlichen Enzymmethode im Rahmen der Verträglichkeitsprobe experimentell geprüft werden.

Material

Seren Sämtliche 15 Testseren entstammen dem immunhaematologischen Laboratorium des Blutspendezentrums des SRK im Bürgerspital Basel. Die Spezifität der in den Seren enthaltenen Antikörper war vorgängig bestimmt worden. Zu der Herkunft des Immun-Anti-A₁ muss noch folgendes erwähnt werden: Dieses Serum stammt von einem A₂-Patienten, der multiple Transfusionen erhalten hat. Seine irregulären Anti-A₁ haben daraufhin Immuneigenschaften angenommen. Die Testseren gehörten der Zeitspanne von 1957-1965 an und wa-

ren bis zur Versuchsverwendung im Tiefkühlschrank bei -20°C aufbewahrt.

Testzellen Die benutzten Testerythrocyten werden in ACD-Lösung (Natr. citr. tribas 16,0 gr, Acid. citr. 4,7 gr, Glucose 25,0 gr, Aqua dest. ad 1000 cc) aufbewahrt und 14 Tage für Testzwecke verwendet. Sie gehören der Gruppe 0 an und sind in die Blutgruppensysteme MNSs, P, Rh, Lewis, Kell, Duffy und Kidd differenziert. Von diesen Zellen wurde eine Suspension in physiologischer, pyrogenfreier NaCl-Lösung hergestellt. Diese Aufschwemmung wurde einmal durch 4-minütiges Zentrifugieren bei 3000 U/Min. gewaschen und eine etwa 2%-ige Zellsuspension in physiologischer Kochsalz-Lösung bereitet.

Reagenzien Das Antiglobulinserum (2 Chargen: Bern und Zürich) wird von Kaninchen durch Sensibilisierung mit menschlichem Vollplasma gewonnen. Es enthält Antikörper sowohl gegen IgG als auch IgM, sowie C'3a und C'4, ist also ein sog. Breitspektrum-Antiglobulinserum. Für Versuchszwecke wurde es nach entsprechenden Vorversuchen zur Feststellung der optimalen Verdünnung auf 1:40 verdünnt. Die 30%-ige Rinder-Albuminlösung stammte von der Dade reagents Inc. Man erreicht damit die für eine Agglutination von blockierenden Antikörpern erforderliche Proteinendkonzentration von 15-17%. Die 20%-ige Albuminlösung wurde durch Ver-

dünnung der 30%-igen mit physiologischer Kochsalzlösung selbst zubereitet. Zur Differenzierung der Gruppe A wurde das Anti-A₁ (Anti-A absorbiert) "Dade" verwendet. Das Papainpulver "Merk" für die Enzymexperimente mit Papain-Lösung besitzt proteolytische und auf das Zeta-Potential reduzierend wirkende Eigenschaften bei Inkubation im Brutschrank. Die Zubereitung erfolgte täglich frisch.

Zentri- Als Zentrifuge wurde eine englische MSE/Mul-
fuge tex. benutzt: Durchmesser 40 cm, Kapazität bis 5000 Touren/Min., "Cycles" 50.

Methoden

Albumin- Zu zwei Verdünnungsreihen des zu unter-
test suchenden Serums in physiologischer
(20%, bew. NaCl-Lösung wurden je 2 Tropfen einer
30%) etwa 2%-igen Zellsuspension in NaCl und
je 2 Tropfen von der 20%-igen, bew. 30%-
igen Rinder-Albuminlösung dazugegeben.
Sodann wurde eine halbe Stunde bei 37°C
im Wasserbad inkubiert. Anschliessend wurde
1 Minute bei 1000 U/Min. zentrifugiert
und mikroskopisch abgelesen.

Albumin- Diese Methode ist vor allem im engli-
ersatz- schen Sprachgebrauch als Albumin-Re-
methode placement-Technic bekannt.
Das Vorgehen bestand in demselben Prin-

zip, wie eben zuvor angegeben. Allerdings wurde das 20%-ige, bzw. 30%-ige Rinderalbumin und zwar hiervon jeweils ein Tropfen erst nach Inkubation und anschließender Abheberung des überstehenden NaCl hinzugefügt. Die Serum-Zell-Mischung wurde dann nochmals eine halbe Stunde bei 37°C inkubiert und nachher sofort mikroskopisch abgelesen.

NaCl-Test

Zwei Tropfen einer etwa 2%-igen Zell-suspension in NaCl wurden einer Verdünnungsreihe des Testserums hinzugegeben, eine halbe Stunde bei 37°C im Wasserbad inkubiert, sodann eine Minute bei 1000 U/Min. zentrifugiert und mikroskopisch abgelesen.

Antiglobulin-Test

Diese Methode unterscheidet sich in keiner Weise bis zum Zentrifugieren vom Vorgehen beim NaCl-Test. Nach Entnahme aus dem Wasserbad wurden die Röhrchen jedoch aufgeschüttelt, mit physiologischer Kochsalz-Lösung aufgefüllt und die Erythrocytensuspension bei 3-4000 U/Min. zentrifugiert. Dieser Waschvorgang wurde insgesamt dreimal durchgeführt. Nach dem letzten und möglichst vollständigen Abkippen der überstehenden Flüssigkeit brachte man einen Tropfen des Erythrocytensediments auf eine Opalglasplatte. Daraufhin fügte man einen Tropfen des optimal verdünnten Antiglobulinserums hinzu, vermischte und las unter leichtem Schwenken spätestens nach 5 Minuten ma-

makroskopisch auf Agglutination ab.

Antiglobulin- Dieses Verfahren bestand in einer Wei-
test (mit Zu- terverarbeitung des Albumintestes ent-
satz von 30%- sprechend dem oben angeführten Anti-
igem Rinder- globulintest.

Albumin) Es wurde wiederum eine Verdünnungsreihe
des zu untersuchenden Serums in physio-
logischer NaCl-Lösung hergestellt. Zwei
Tropfen einer etwa 2%-igen Zellsuspension
in NaCl und je zwei Tropfen einer 30%-
igen Rinder-Albuminlösung wurden sodann
jedem Röhrchen hinzugefügt. Anschliessend
wurde eine halbe Stunde bei 37°C im Was-
serbad inkubiert. Danach wurde die Zell-
suspension wie zuvor dreimal gewaschen.
Man brachte wiederum einen Tropfen des
Sediments auf die Opalglasplatte, fügte
einen Tropfen Antiglobulinserum hinzu,
vermischte und las makroskopisch auf
Agglutination ab.

Papain-Test Es wurde zuerst erneut eine geometrische
Verdünnungsreihe des zu untersuchenden
Serums mit NaCl bereitet.

Danach setzte man die Testerythrocyten
mit aktiver Papain-Lösung an. Hierzu wur-
den die Testzellen zu 20%-25% ohne vor-
gängiges Waschen in ACD aufgeschwemmt
(6 Tropfen ACD und 2 Tropfen konz. Zel-
len). Von dieser Suspension mischte man
nun je einen Tropfen, der Verdünnungsrei-
he entsprechend insgesamt 10, mit einem

Tropfen der Papain-Lösung auf der Opalglasplatte. Anschliessend brachte man die Mattglasplatte mit der Papain-Zell-Mischung für zehn Minuten bei 37°C zur Inkubation in den Brutschrank. Nach der Entnahme aus dem Brutschrank gab man noch je einen Tropfen der Serumverdünnungsreihe zu den nun vom Papain angedauten Blutzellen auf die Opalglasplatte, liess diese dann zwei Minuten liegen und las anschliessend unter leichtem Schwenken makroskopisch auf Agglutination ab.

Einige Kälte-Agglutinine (Anti-A₁, Anti-Le^a und Anti-M) wurden zusätzlich bei Zimmertemperatur untersucht. Es wurde bei den jeweiligen Experimenten die oben angeführte, entsprechende Methode angewandt. Lediglich die Inkubation für 30 Minuten im Wasserbad wurde durch Stehenlassen bei Zimmertemperatur (20°C) für die gleiche Zeitspanne ersetzt.

Kontrollen Für jeden Versuch und bei jeder Methode wurde mit NaCl eine geometrische Verdünnungsreihe von 1:1 bis 1:512 hergestellt und bei der Auswertung der Reaktionsergebnisse entsprechend der Dilution die Titerhöhe berücksichtigt.

Resultate und Bewertung der erzielten Re-
aktionen.

Wie Tabelle I zeigt, wurde zuerst eine Studienreihe angesetzt, in der die Wirksamkeit von Konzentrationsunterschieden im Gebrauch von Rinder-Albumin in der zweiten Stufe der Verträglichkeitsprobe untersucht wurde. Die Bewertung der Ergebnisse erfolgte nach der Aussage der Titerhöhe. Von den zwei Vergleichsserien, zubereitet mit 20%-igem, bzw. 30%-igem Rinder-Albumin, war entweder die eine "besser", zeigten beide ein "gleichstark positives" Reaktionsergebnis oder waren beide "negativ".

Dabei bedeutet "besser" einen um mindestens einen oder einige Grade höheren Titer oder aber überhaupt eine positive Reaktion in der einen Versuchsreihe im Gegensatz zu einer negativen in der anderen.

Die Tabelle I gibt die getestete Anzahl der Antikörper wieder, eingeteilt nach ihrer Spezifität, und die Resultate nach einer Inkubation von 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad.

Vergleicht man nun die Reaktion der beiden Serien mit den entsprechend unterschiedlichen Konzentrationen nach dem oben gewählten Modus "besser", so ergaben sich bei 5 der untersuchten Antikörper mit dem 30%-igen Rinder-Albumin wesentlich stärkere Reaktionen. Dagegen wurde mit dem 20%-igen Rinder-Albumin kein "besseres" Ergebnis erzielt. Ebenfalls bei 5 Antikörpern der Testreihe zeigten sich keine Wertungsdifferenzen. Es konnten vielmehr mit bei-

den Konzentrationen gleich gute Resultate erreicht werden. Das restliche Drittel verteilt sich auf Antikörper, die in beiden Experimenten negativ reagierten.

Tabelle II zeigt dieselbe Versuchsanordnung mit beiden Albuminkonzentrationen, allerdings mit einem anderen Verfahren, nämlich der Albuminersatzmethode oder Albumin-Replacement-Technic im angelsächsischen Sprachgebrauch.

Diese Methode ist dem sonst üblichen Albumintest sicher überlegen, dürfte sich jedoch für den Routinebetrieb kaum eignen. Sie ist nämlich zeitlich und arbeitsmässig betrachtet wesentlich aufwendiger. Bemerkenswert ist allerdings, dass die zwei Seren mit hell-Antikörpern nur nach dieser Technik reagierten. Ausserdem liess sich ganz allgemein ein deutlicher Titeranstieg in den einzelnen Reaktionen erkennen, was ebenfalls für eine stärkere Empfindlichkeit dieser Methode spricht.

Im Vergleich der beiden Albuminkonzentrationen untereinander ergab sich jedoch sonst ein ungefähr ähnliches Bild wie in Tabelle I, wenn das Rinder-Albumin bereits vor der Inkubation hinzugefügt wurde. Demnach reagierten 8 der insgesamt getesteten Anzahl "besser" mit dem 30%-igen Rinder-Albumin. 4 Antikörpertestseren wiesen "gleichstarke positive" Agglutinationsergebnisse auf und 3 zeigten in beiden Serien "negative" Resultate.

Die Kälte-Agglutinine Anti-A₁, Anti-Le^a und Anti-M wurden noch zusätzlich bei Zimmertemperatur angesetzt. Während jedoch nach Tabelle III im Vergleich der beiden Albuminkonzentrationen der Anti-Le^a-

Übersicht und systematische Zusammenstellung der Ergebnisse entsprechend der Spezifität der getesteten Blutgruppen-Antikörper und unter Berücksichtigung der Durchführung verschiedener Versuchsanordnungen.

	<u>NaCl</u>	<u>Albumintest</u>		<u>Albuminersatz- methode</u>		<u>AGT¹⁾</u>	<u>AGT²⁾</u>	<u>Papain</u>
		20%	30%	20%	30%			
1. Anti-D	: neg.	1:2	/ 1:4	1:4	/ 1:4	1:8	1:8	1:1
2. Anti-D	: 1:2	1:64	/ 1:256	1:128	/ 1:256	1:256	1:256	1:8
3. Anti-D	: 1:2	1:2	/ 1:4	1:8	/ 1:16	1:8	1:16	1:4
4. Anti-D	: 1:8	1:16	/ 1:16	1:16	/ 1:16	1:8	1:32	1:2
5. Anti-D	: 1:8	1:16	/ 1:16	1:64	/ 1:128	1:16	1:64	1:2
6. Anti-D	: neg.	1:8	/ 1:8	1:32	/ 1:64	1:32	1:64	1:16
7. Anti-D	: neg.	1:8	/ 1:8	1:64	/ 1:128	1:32	1:512	1:16
8. Anti-c	: 1:1	1:2	/ 1:8	1:16	/ 1:16	1:2	1:8	1:2
9. Anti-E	: neg.	1:1	/ 1:2	1:2	/ 1:16	neg.	1:2	1:2
10. Anti-A ₁	: neg.	neg.	/ neg.	neg.	/ neg.	neg.	1:1	neg.
11. Anti-Le ^a	: neg.	neg.	/ neg.	neg.	/ neg.	neg.	neg.	1:1
12. Anti-K	: neg.	neg.	/ neg.	1:32	/ 1:64	1:8	1:16	1:4
13. Anti-K	: neg.	neg.	/ neg.	1:8	/ 1:16	neg.	1:4	1:1
14. Anti-M	: neg.	neg.	/ neg.	neg.	/ neg.	neg.	neg.	neg.
15. Anti-Lu ^a	: 1:4	1:4	/ 1:4	1:4	/ 1:4	neg.	neg.	neg.

N.B.: Die Durchführung dieser Testmethoden erfolgte mit Inkubation bei 37° C.

- 1) Antiglobulin-Test im NaCl-Milieu.
- 2) Antiglobulin-Test mit Zusatz von 2 Tropfen einer 30%-igen Rinder-Albumin-Lösung.

	<u>NaCl</u>	<u>Albumintest</u>		<u>Albuminersatz- methode</u>		<u>AGT¹⁾</u>	<u>AGT²⁾</u>
		20%	30%	20%	30%		
1. Anti-A ₁	: neg.	neg.	/ 1:2	neg.	/ 1:2	neg.	neg.
2. Anti-Le ^a	: neg.	1:2	/ 1:2	1:4	/ 1:2	1:2	1:4
3. Anti-M	: neg.	neg.	/ neg.	neg.	/ neg.	neg.	neg.

N.B.: Die Anwendung der oben angeführten Testmethoden erfolgte bei Zimmertemperatur.

- 1) Antiglobulin-Test im NaCl-Milieu.
- 2) Antiglobulin-Test mit Zusatz von 2 Tropfen einer 30%-igen Rinder-Albumin-Lösung.

TABELLE I. Vergleich zwischen 30%-iger und 20%-iger Rinder-Albumin-Lösung.

Getestete Anzahl	Antikörperart	30% besser	20% besser	beide gleich pos.	beide neg.
7	Anti-D	3		4	
1	Anti-c	1			
1	Anti-E	1			
1	Anti-A ₁				1
1	Anti-Le ^a				1
2	Anti-K				2
1	Anti-M				1
1	Anti-Lu ^a			1	
Total					
15		5		5	5
%		33%		33%	33%

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei 37° C, Albuminzugabe vor der Inkubation.

TABELLE II. Vergleich zwischen 30%-iger und 20%-iger Rinder-Albumin-Lösung.

Getestete Anzahl	Antikörperart	30% besser	20% besser	beide gleich pos.	beide neg.
7	Anti-D	5		2	
1	Anti-c			1	
1	Anti-E	1			
1	Anti-A ₁				1
1	Anti-Le ^a				1
2	Anti-K	2			
1	Anti-M				1
1	Anti-Lu ^a			1	
Total					
15		8		4	3
%		53%		27%	20%

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei 37° C, Albuminzugabe nach der Inkubation.

Titer keinen Reaktionsunterschied aufwies, erreichte man beim Anti-A₁ mit dem 30%-igen Rinder-Albumin ein "besseres" Ergebnis. Anti-M dagegen reagierte auch nicht bei Zimmertemperatur.

Bei Anwendung der Albuminersatzmethode bei diesen drei Antikörpern unter den Reaktionsbedingungen bei Zimmertemperatur (Tabelle IV) zeigte sich folgendes Bild: Das Anti-A₁ lieferte ein positives Ergebnis bei Zusatz von 30%-igem Rinder-Albumin gegenüber einer negativen Reaktion mit dem 20%-igen. Beim Anti-Le^a bewirkte das 20%-ige Rinder-Albumin ein "besseres" Resultat. Das Anti-M liess auch hier wiederum keine Agglutination erkennen.

Anschliessend wurde eine Versuchsreihe mit den bekannten Antikörpern vergleichsweise zwischen dem Antiglobulin-Test ohne Albuminzusatz und dem Antiglobulin-Test mit Zusatz von 30%-igem Rinder-Albumin durchgeführt. Dabei gelangte man zu den in Tabelle V gezeigten Ergebnissen.

10 der Testantikörper reagierten "besser" nach vorausgegangener Inkubation mit 30%-igem Rinder-Albumin gegenüber dem Kochsalz-Antiglobulin-Test. Als bemerkenswerte Tatsache soll an dieser Stelle noch betont werden, dass sich in drei Fällen die Antikörper nur mit Hilfe des Antiglobulin-Testes mit Rinder-Albuminzusatz nachweisen liessen. 2 der Rhesus-Antikörper (Anti-D) zeigten in beiden Verfahren ein gleich starkes positives Reaktionsresultat.

Die drei spezifischen Kälte-Agglutinine Anti-A₁, Anti-Le^a und Anti-M wurden ebenfalls im Anti-

TABELLE III. Vergleich zwischen 30%-iger und 20%-iger Rinder-Albumin-Lösung

Getestete Antikörperart 30% besser 20% besser beide gleich beide neg
Anzahl pos.

1	Anti-A ₁	1		
1	Anti-Le ^a		1	
1	Anti-M			1

Total				
3		1	1	1

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei Zimmertemperatur, Albuminzugabe vor der Inkubation.

TABELLE IV. Vergleich zwischen 30%-iger und 20%-iger Rinder-Albumin-Lösung.

Getestete Antikörperart 30% besser 20% besser beide gleich beide neg.
Anzahl pos.

1	Anti-A ₁	1		
1	Anti-Le ^a		1	
1	Anti-M			1

Total				
3		1	1	1

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei Zimmertemperatur, Albuminzugabe nach der Inkubation.

globulin-Test mit und ohne Rinder-Albuminzusatz noch einmal bei Zimmertemperatur untersucht. Dies führte zu den in Tabelle VI gezeigten Ergebnissen.

Anti-A₁ und Anti-M liessen sich durch keines der beiden Verfahren unter Zimmertemperatur demonstrieren. Anti-Le^a dagegen reagierte im Antiglobulin-Test mit und ohne Rinder-Albuminzusatz. Allerdings rief der Albumineinfluss einen höheren Titeranstieg hervor. Es konnte auch die Feststellung gemacht werden, dass der Albuminzusatz beim Antiglobulin-Test die Reaktion in keiner Weise störte. Ausserdem traten keine unerwünschten und durch den Zusatz von Rinder-Albumin dem Albumin zuzuschreibende unspezifischen Reaktionen auf. Daraus lässt sich schliessen, dass man das zugefügte Rinder-Albumin durch den dreimaligen Waschvorgang mit Zentrifugieren (-4000 U/Min. für je eine Minute) und jeweils anschliessendem kräftigen Abgiessen der überstehenden Flüssigkeit nahezu vollständig entfernen kann. Man darf daher annehmen, dass das Rinder-Albumin die Bindungsmöglichkeiten für die Antikörper an die Erythrocyten begünstigt, ohne selbst in der eigentlichen Phase des Antiglobulin-Testes eine aktive, verfälschende Rolle zu spielen.

Eine weitere Fragestellung der Empfindlichkeitssteigerung der Verträglichkeitsprobe sollte nun noch durch Experimente mit einer der in serologischen Laboratorien üblichen Enzymmethode kurz angeschnitten werden.

Sämtliche 15 Antikörper wurden im Papain-Test auf ihre Reaktionsbereitschaft untersucht und die Ergeb-

TABELLE V. Antiglobulin-Test. Vergleich zwischen AGT mit Zusatz von Rinder-Albumin (30%) und ohne Zusatz.

Getestete Anzahl	Antikörper-art	besser mit Zusatz	besser ohne Alb.-Zusatz	beide gleich pos.	ohne Zusatz allein neg.	mit Zusatz allein neg.
7	Anti-D	5		2		
1	Anti-c	1				
1	Anti-E	1			1	
1	Anti-A ₁	1			1	
1	Anti-Le ^a		beide neg.			
2	Anti-K	2			1	
1	Anti-M		beide neg.			
1	Anti-Lu ^a		beide neg.			
Total						
15		10		2		3
%		67%		13%		20%

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei 37° C.

TABELLE VI. Antiglobulin-Test. Vergleich zwischen AGT mit Zusatz von Rinder-Albumin (30%) und ohne Zusatz.

Getestete Anzahl	Antikörper-art	besser mit Alb.	besser ohne Alb.	beide gleich	beide ohne Alb. neg.	mit Alb. allein neg.
1	Anti-A ₁				1	
1	Anti-Le ^h	1				
1	Anti-M				1	
Total						
3		1			2	

N.B.: Inkubationsdauer 30 Minuten bei Zimmertemperatur.

TABELLE VII. Vergleich zwischen Antiglobulin-Test ohne Rinder-Albumin-zusatz und Papain-Test.

Getestete Anzahl	Antikörper-art	Papain- allein pos.	AGT allein pos.	beide pos.	beide neg.	Papain allein neg.	AGT allein neg.
7	Anti-D			7			
1	Anti-c			1			
1	Anti-E	1					1
1	Anti-A ₁				1		
1	Anti-Le ^a	1					1
2	Anti-K	1		1			1
1	Anti-M				1		
1	Anti-Lu ^a				1		
Total							
15		3		9	3		3
%		20%		60%	20%		20%

N.B.: Inkubation bei 37° C, Dauer der Inkubation beim Antiglobulin-Test 30 Minuten und beim Papain-Test 10 Minuten.

nisse in Tabelle VII im Vergleich mit dem Antiglobulin-Test (ohne Zusatz von Rinder-Albumin) wiedergegeben.

In drei Fällen der angesetzten Versuche zeigte der Papain-Test allein eine positive Wirkung. Bei neun der untersuchten Antikörper waren beide Tests positiv und dreimal beide negativ. Als bemerkenswert muss noch hinzugefügt werden, dass Anti-Le^a bei den Experimenten mit einer Inkubation bei 37°C allein mit Hilfe des Papain-Testes demonstrierbar war.

Ein zusätzlicher Papain-Test darf daher allgemein als empfehlenswert gelten. Warum er aber als alleiniges serologisches Verfahren der Kreuzprobe kein Ersatz der Verträglichkeitsprobe sein kann, das mögen noch einige wesentliche Gesichtspunkte darlegen.

- 1) Man muss sich die Erythrocytenoberfläche mit Erhebungen und Vertiefungen vorstellen. Die Gruppenantigenrezeptoren werden dabei als von aussen nach innen stufenweise sitzend angenommen. Durch das Papain als proteolytischen Enzym werden nun peptidartige Mukoide abgespalten. Dadurch wird eine Oberflächenveränderung der Erythrocyten herbeigeführt, die in einer Nivellierung des Reliefs besteht. Mit der Andauung der Erythrocytenmembran durch das Papain werden aber auch die der Oberfläche am nächsten sitzenden Blutgruppenantigene zerstört. Infolgedessen ist z.B. bei der Anwendung des Papains der Nachweis von Anti-M, Anti-N und gewissen Anti-Fy^a nicht mehr möglich.

- 2) Soll eine Methode in einem Routinebetrieb durchgeführt werden, so unterliegt sie in einem gewissen Prozentsatz immer den Gefahren der Fehlbeurteilung. Man muss also danach trachten, dieses Kriterium des menschlichen Versagens durch eine Sicherung der Technik mit Hilfe zusätzlicher Kontrollreaktionen einzudämmen. Diese Möglichkeit ist durch den 3-Stufen-Test der Verträglichkeitsprobe gegeben.

Durch die Anwendung eines einzigen Verfahrens, z.B. lediglich eines Enzym-Testes, ist jedoch das Risiko als zu hoch einzuschätzen. Man kann deshalb dem Papain-Test als alleiniger Methode keinen empfehlenswerten Vorrang einräumen.

- 3) Nach den Erfahrungen des immunhaematologischen Laboratoriums des Bürgerspitals Basel muss auch die serologische Wirksamkeit des Papains bei alternden Test-Erythrocyten angezweifelt werden. Der Papain-Test führte nämlich in einem derartigen Falle zu pseudopositiven Reaktionen, die sich beim Nachweis mit angeforderten frischen Test-Zellen als falsch herausstellten.

- 4) Es wurden ebenfalls Seren beobachtet ⁴², die im Papain-Test mit allen Test-Erythrocyten und auch mit den eigenen roten Blutkörperchen positiv reagierten. Diese Seren wurden jedoch nicht als Antikörper enthaltende Seren interpretiert.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung.

Eingangs wurde an Hand eines ausgewogenen Zahlenmaterials die Zunahme der Bluttransfusionen am Bürgerspital Basel dargestellt. Ausserdem wurde auf das Transfusionsrisiko vor und nach der Durchführung eines serologischen Verträglichkeitstestes im Blutgruppenlaboratorium des Bürgerspitals eingegangen. Gegenüber den 16 haemolytischen Transfusionsreaktionen vor 1955 mit zwei Todesfällen ist der Erfolg der routinemässigen Anwendung eines 3-Stufen-Testes mit lediglich drei Transfusionszwischenfällen, bedingt durch menschliches Versagen, offensichtlich.

Der Anstieg der Bluttransfusionen in der Therapie birgt aber auch heute noch, abgesehen von der Serumhepatitis, Gefahren für die Sicherheit und das Leben des Patienten in sich. Dies sollte ein Vergleich mit der Penicillintherapie und der Anaesthesie im Klinikbetrieb deutlich machen. In der Applikation von Bluttransfusionen ist dieses Risiko neben der Einbeziehung menschlicher Fehlerquellen durch die Tatsache bedingt, dass die Durchführung einer sicheren serologischen Testmethode nach Art des am Bürgerspital Basel praktizierten 3-Stufen-Testes noch nicht Allgemeingut ist.

Deshalb wurde auch auf das Problem und die Ursachen der serologischen Unverträglichkeit näher eingegangen und die differenzierende Agglutination und die Erythrocytenmarkierung mit isotopen Substanzen als quantitative Bestimmungsmethoden einer derarti-

gen Inkompatibilität beschrieben. Ausserdem wurden einige Hinweise zur Prophylaxe der Unverträglichkeit angegeben.

Die Verträglichkeitsprobe gibt in qualitativer Hinsicht bereits vor der Anwendung einer Blutübertragung Auskunft über eine zu erwartende Verkürzung der Erythrocytenlebensdauer. Sie stellt also die dringlichst erforderliche Prophylaxe in der Verhütung von Transfusionszwischenfällen dar. Anhand erfolgversprechender Erfahrungen empfiehlt sich die am Bürgerspital Basel praktizierte Methode. Durch die Einteilung in drei Stufen erfasst sie den grössten Bereich der Antikörper und berechtigt daher auch ihre Durchführung.

Im 3-Phasen-Test spielt die Zugabe von Rinder-Albumin eine bedeutende Rolle für das Auffinden inkompletter Antikörper. Eine von Pollack veröffentlichte Erklärung des Wirkungsmechanismus des Albumins als eine Funktion der Dielektrizitätskonstanten und des Zeta-Potentials versucht diese empirische Bedeutung wissenschaftlich zu fundieren.

Eigene experimentelle Arbeiten im Zusammenhang mit dem Albuminzusatz beschäftigten sich vor allem mit Untersuchungen hinsichtlich verschiedener Konzentrationen in der Anwendung des Rinder-Albumins. Sie führten zu dem Ergebnis, dass das 30%-ige Rinderalbumin eine allgemeine Verstärkung der einzelnen Reaktionen herbeiführte.

Im Antiglobulin-Test zeigte das Rinderalbumin ebenfalls einen erheblichen Einfluss auf die Steigerung der serologischen Reaktionsempfindlichkeit. Das zugesetzte Rinderalbumin gab keinen Anlass zu unspezifischen Erscheinungen.

Die Durchführung von Versuchen mit der Albuminersatzmethode sprach für eine weitere Verbesserung in der serologischen Reaktionsbereitschaft und soll ebenso als eine zusätzliche Methode empfohlen werden wie die Anwendung eines Enzym-Testes.

- 1) Abramson, H.A.: Electrokinetic Phenomena.
New York Chemical Catalogue Co 331 (1934).
- 2) Ashby, W.: The determination of the live of the transfused
blood corpuscles in man.
J.exp. Med. 29,267 (1919).
- 3) Brinton, C.C., Jr. und Lauffer, M.A.: The electrophoresis of
viruses, bacteria and cells and the micro-
scopic method of electrophoresis.
Electrophoresis, theory, methods and applica-
tion 427 (1959).
- 4) Brody, O.V.: Microelectrophoresis studies on human erythro-
cytes.
Ph.D.Thesis, Harvard Univ. (1954).
- 5) Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. und Race, R.R.: Detection of
weak and incomplete Rhesus agglutinins:
a new test.
Lancet II, 15 (1945).
- 6) Coombs, R.R.A., Mourant, A.E. und Race, R.R.: A new test for
the detection of weak and incomplete Rhesus
agglutinins.
Brit.J.exp.Path. 26,255 (1945).
- 7) Dacie, J.V. und Mollison, P.L.: Survival of normal erythro-
cytes after transfusion to patients with
familial haemolytic anaemia (acholuric jaun-
dice).
Lancet I, 550 (1943).
- 8) Diamond, L.K. und Denton, R.L.: Rh-agglutination in various
media with particular references to the value
of albumin.
J.Lab.clin. Med. 30,281 (1945).

- 9) Ebaugh, F.G. jr., Emerson, C.P. und Ross, J.F.: The use of radioactive chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for the determination of red cell survival in vivo.
J.clin.Invest. 32,1260 (1953).
- 10) Elliott, J., footnoted in Wiener, A.S.: Conglutin test for Rh-sensitization.
J.Lab. & Clin.Med. 30,662 (1945).
- 11) Elliott, J.: Procedures of the blood bank of Dade County.
not published (1947).
- 12) Gray, S.J. und Sterling, K.: The tagging of red cells and plasma proteins with radioactive chromium.
J.clin.Invest. 29,1604 (1950).
- 13) Griffitts, J.J.: Blood bank procedures.
Dade Reagents 8,46 (1946).
- 14) Griffitts, J.J., Frank, S. und Schmidt, R.P.: The influence of albumin in the antiglobulin crossmatch,
Transfusion 6,461 (1964).
- 15) Grove-Rasmussen, M. und Soutter, L.: The necessity for adding albumin to serum in crossmatching.
New.Eng.J.Med. 248,149 (1953).
- 16) Hässig, A. : Aktuelle Probleme der Bluttransfusion
Fortschritte der Medizin 84,239 (1966).
- 17) Hamrick, L.: The use of an albumin-enhanced indirect antiglobulin system to detect immune Anti-A and Anti-D in the serum of the newborn.
Transfusion 5,382 (1964).
- 18) Holländer, L.P.: Das Lutheran-Blutgruppensystem. Die Häufigkeit des Lutheran-Antigens in der Bevölkerung Basels.
Schweiz.med.Wschr. 85,10 (1955).

Über die Blutgruppe Duffy und ihre Verteilung in Basel.

Acta Haemat. 6,257 (1951).

- 19) Hughes Jones,N.C. und Mollison,P.L.: Interpretation of Cr ⁵¹
survival curves.
Clin.sci. 15,207 (1956).
- 20) Hurley,T.H. und Weismann,R.jr.: The determination of the
survival of transfused red cells by a
method of differential hemolysis.
J.clin.Invest. 33,835 (1954).
- 21) Kabat,E.A. und Mayer,M.M.: Experimental immunochemistry.
C.C.Thomas 2,327 (1961).
- 22) Keynes,G.: Blood Transfusion,John Wright Bristol (1949).
- 23) Kissmeyer-Nielsen,F. und Kristoffersen,K.: Transfusion
reaction due to anti-P.
Acta chir. Scand. 109,1,48 (1955).
- 24) Kuschinsky,G.: Häufigkeit,Formen und Verlauf der Peni-
cillinallergien.
Deutsche med.Wschr. 85,789 (1960).
- 25) Kuschinsky,G.und Lüllmann,H.: Kurzes Lehrbuch der Pharma-
kologie 2,142 (1966).
- 26) Landsteiner,K.: Ueber Agglutinationserscheinungen nor-
malen menschlichen Blutes.
Wien.Klin.Wschr. 14,1132 (1901).
- 27) Landsteiner,K. und Levine,P.: On isoagglutinin reactions
of human blood other than those defining
the blood groups
J.Immunol. 17,1 (1929).
- 28) Landsteiner,K. und Levine,P.: On individual differences
in human blood.
J.exp.Med. 47,757 (1928).

- 29) Landsteiner,K. und Wiener,A.S.: An agglutinable factor in human blood recognised by immune sera for rhesus blood.
- 30) Levine,P.: Blood group,antigens & antibodies.
Ortho Pharmaceutical Corporation 8,67 (1960).
- 31) Levine,P. und Stetson,R.E.: An unusual case of intra-group agglutination.
J.Amer.med.Ass. 113,126 (1939).
- 32) Mollison,P.L.: Blood transfusion in clinical medicine.
Blackwell,Oxford 3,161 (1961).
- 33) Mollison,P.L. und Cutbush,M.: The use of isotope-labelled red cells to demonstrate incompatibility in vivo.
Lancet 1,1220 (1955).
- 34) Oehlecker,F.,Chirurg 18,261 (1950).
- 35) Pollack,W.,Hager,H.J.,Reckel,R.,Toren,D.A. und Singher H.O.
A study of the forces involved in the second stage of hemagglutination.
Transfusion 2,158 (1965).
- 36) Prokop und Uhlenbruck, Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen,Thieme Leipzig 141 (1963).
- 37) Reissigl,H.,: Die Bluttransfusion,Maudrich Wien (1961).
- 38) Schreiber,W.: Vorkommen,Behandlung und Verhütung anaphylaktischer Schocks nach Verabreichung von Penicillin.
13.Wissenschaftliche Ärztetagung,Nürnberg.
- 39) Schuppli,R.: Klinik und Therapie der Penicillinnebenwirkungen.
Praxis,Schweizerische Rundschau für Medizin 3,70-74 (1963).

- 40) Smoluchowski, M.: Handbuch der Elektrizität und des Magnetismus.
11.366 (1921).
- 41) Sutherland, D.A. und McCall, M.S.: The measurement of the survival of human erythrocytes by in vivo tagging with Cr⁵¹.
Blood 10, 646 (1955).
- 42) Wiener, A.S.: Persönliche Mitteilung an Prof. Holländer.
- 43) Woronow, N.: Zur Methode der Feststellung von Erythrocyten des transfundierten homologen Blutes im Menschenblut.
Zbl.Chir. 63, 2789 (1936).

Zum Abschluss meiner Dissertation möchte ich es nicht versäumen, Herrn Prof. Dr. Holländer, Basel, für die Überlassung der Arbeit, seine Anregungen und die grosszügigen Arbeitsmöglichkeiten in dem ihm unterstehenden immun-hämatologischen Laboratorium des Bürgerspitals Basel zu danken.

Mein Dank gilt aber auch Herrn Prof. Dr. Jungwirth für die freundliche Übernahme des Referats.

Lebenslauf

Am 21. August 1940 wurde ich als Sohn des Tierarztes Dr. Max Hermann und seiner Ehefrau Annemarie, geb. Alberstötter, in Schrobenhausen geboren.

In meiner Geburtsstadt besuchte ich auch 5 Jahre lang die Volksschule. Im Juli 1960 legte ich am Humanistischen Gymnasium zu Scheyern die Reifeprüfung ab. Anschließend musste ich für 15 Monate bei der Bundeswehr den Pflichtwehrdienst ableisten.

Im Wintersemester 1961/2 konnte ich dann mit dem Medizinstudium an der med. Fakultät der Universität München beginnen. Die medizinischen Zwischenprüfungen, Vorphysikum und Physikum, absolvierte ich im Herbst 1962, bzw. im Frühjahr 1964. Nach den vorklinischen Semestern in München setzte ich mein Studium in der Schweiz fort (Zürich, Basel und Genf). Professor Holländer von der med. Fakultät Basel gab mir während meines dortigen Studienaufenthaltes die Möglichkeit, meine Dissertation anzufertigen.

Nach dem vierten klinischen Semester kehrte ich wieder an die Universität München zurück und legte hier im Laufe des ersten Halbjahres 1967 das Staatsexamen in der Medizin ab.

